ARCHIV FÜR ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ZEHNTER BAND

MIT 90 TEXTFIGUREN UND 40 TAFELN



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1913

Inhalt des zehnten Bandes

Erstes und Zweites Heft

Ausgegeben am 1. April 1913

Drittes Heft

Ausgegeben am 6. Mai 1913

Viertes Heft

Ausgegeben am 8. Juli 1913

Zellenstudien. I.

Morphologische Beiträge zum Problem des Eiwachstums.

Von

Max Jörgensen †.

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Mit 15 Textfiguren und Tafel I—XII.

Nachruf.

Max Jörgensen erlebte die Drucklegung dieser Arbeit nicht mehr: ein früher Tod raffte den jungen Forscher am 28. April 1912 dahin. Geboren am 6. Februar 1885 zu Marburg an der Lahn studierte Jörgensen zunächst Jurisprudenz, wandte sich aber bald der Zoologie zu, deren Studium er zunächst in München, dann in Heidelberg betrieb. Hier promovierte er auch im Januar 1908 summa cum laude mit einer in diesem Archiv erschienenen Arbeit »Untersuchungen über die Eibildung bei *Nephelis vulgaris* Moquin Tandon«. Arch. f. Zellf. Bd. II. Nach München zurückgekehrt widmete er sich ganz cytologischen Studien, als deren Frucht er veröffentlichte: Beiträge zur Kenntnis der Eibildung, Reifung, Befruchtung und Furchung bei Schwämmen (Sykonen). Arch. f. Zellf. Bd. IV und Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von *Proteus anguineus.* Festschr. f. R. Hertwig, I. Band, 1910. Von Ostern 1909 bis Ostern 1911 war er außerdem als Assistent am Zoologischen Institut tätig. Die folgenden Untersuchungen sollten gerade als Habilitationsschrift eingereicht werden, als ihn der Tod im Anschluß an eine Blinddarmoperation ereilte und der zoologischen Wissenschaft einen begeisterten und nach Hohem strebenden Jünger, seinen Lehrern, Kollegen und Freunden einen warmherzigen und heiteren Kameraden entriß. Die vorliegende Arbeit, an die der Verfasser wohl hier und da noch die bessernde Hand gelegt haben würde, erscheint in der Form, in der sie sich vorfand. Daß sie mit der dem zeichnerisch besonders begabten Autor so sehr am Herzen liegenden reichen Illustration erscheinen konnte, wurde durch die pietätvolle Liberalität seines Vaters ermöglicht. R. G.

Einleitung.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Problem des Riesenwachstums des tierischen Eies. Seit den klassischen Arbeiten von Rückert (92) und Born (94) über das Selachier- und Amphibienkeimbläschen beschäftigen sich wohl alle Untersuchungen über die Eibildung — soweit sie nicht nur die reinen Zahlenverhältnisse der Chromosome berücksichtigen — mehr oder weniger ausgesprochen mit diesem Problem.

Es hat sich nun bisher herausgestellt, daß das Riesenwachstum des Eies ein komplexes Problem ist, das durch die Untersuchung eines oder weniger Objekte oder durch theoretische Spekulationen, die wie vieles, so auch dieses Problem des Riesenwachstums erklären wollen, nicht zu lösen ist.

Schon rein morphologisch betrachtet ist unser Problem wegen der vielen zum Teil äußerst mannigfaltigen, oft sehr komplizierten und sich widersprechenden Kern- und Zellstrukturen höchst verwickelt und vieldeutig [1]).

Ich habe nun versucht, an einer größeren Anzahl von Fällen (als allgemein üblich) einige Gesetzmäßigkeiten allgemeiner Art abzuleiten. Leider drängen auch mich äußere Gründe zum vorläufigen Abschluß, obwohl — im Vergleich zur Fülle der Erscheinungen — nur ein ganz spärliches Material durchgesehen wurde.

Soviel geht aber schon jetzt aus unsern morphologischen Befunden, besonders aus der großen Specifizität der Nucleolarsubstanzen hervor, daß eine definitive Lösung unsers Problems von der Morphologie allein nicht zu erwarten ist.

Deshalb beabsichtige ich, diese meine vorläufigen morphologischen Mitteilungen — abgesehen von weiteren morphologischen, breiter basierten Untersuchungen — noch zu erweitern durch physiologische Eingrenzungen der in Betracht kommenden nucleolären und chromosomalen Strukturen, sowie des während seiner Entwicklung großen Änderungen unterworfenen Eiplasmas.

Natürlich konnte ich selbst nicht all das untersuchte, häufig marine Material zusammenbringen. Für die Überlassung von zum Teil lebenden, zum Teil schon fixierten Objekten bin ich besonders dankbar

[1]) Eine zusammenfassende Darstellung der das Eiwachstum bedingenden Faktoren existiert nicht. Viele — von den verschiedensten Autoren gelegentlich ihrer speziellen Untersuchungen — geäußerte Ansichten finden sich bei Lubosch (02).

den Herren: Prof. Doflein, Dr. Krumbach, Dr. Buchner, Dr. Balss, Dr. Stechow, Dr. Zugmeier, Müller-Mainz, Nachtsheim und Gille.

Ich gehe jetzt in medias res und beginne mit dem

I. Hauptteil.

Die Größe des Eikernes ist abhängig von der Ausbildung der Ernährungsvorrichtungen des Eies.

1. Nutrimentäres [1]) Eiwachstum (Tafel I).

Eier mit gut ausgebildeten Nährvorrichtungen besitzen während ihres Wachstums in den meisten Fällen — im Verhältnis zum Plasma — kleine Kerne; sie haben eine kleine Kernplasmarelation.

Dieses Mißverhältnis des Eikernes zum Eiplasma ist immer das gleiche, ob das Ei nun von einer einzigen Nährzelle, oder von mehreren (bis 50) abortiven Eizellen oder von vielen Tausenden von Follikelzellen oder schließlich von Nähr- und Follikelzellen gleichzeitig ernährt wird.

Diese Gesetzmäßigkeit ist völlig unabhängig von der betreffenden Tierspecies oder Tierstamm, dem das Ei angehört. Wir gruppieren deshalb in unsrer speziellen Darstellung die verschiedenen Formen der nutrimentären Eibildung nach der Ausbildung der Nährvorrichtungen — ohne Rücksicht auf die Systematik.

2. Solitäres [2]) Eiwachstum (Tafel II).

Ganz anders verhalten sich dagegen solche Eier, die bei ihrem Wachstum jeglicher Hilfszellen entbehren. Bei ihnen darf man am ehesten erwarten, die Faktoren, die das Wachstum des Eies bedingen, klar und eindeutig — morphologisch — in Erscheinung treten zu sehen. Alle Wachstums- und Reservestoffspeicherungsprozesse spielen sich nur an einer einzigen Zelle mit einem einzigen Kern ab, ohne daß diese unicellulären Vorgänge durch adventive Prozesse von seiten weniger Nähr- oder zahlreicher Follikelzellen getrübt würden.

Es wird sich nun im Verlauf unsrer Untersuchung herausstellen, daß bei dem Typus des solitären Eiwachstums die Größe des Eikernes eine besondere Rolle zu spielen scheint. Er erfährt (im Gegensatz zum nutrimentären Wachstumstyp) eine bedeutende Volumvergrößerung und

---

[1]) Nutrimentäres Eiwachstum = Wachstum mit extraovocytären Hilfszellen.

[2]) Solitäres Eiwachstum = Wachstum ohne diese Hilfszellen.

bildet — in vielen Fällen wenigstens — seine Hauptkomponente, die Chromosome, in besonders auffälliger Weise aus.

Anders beim nutrimentären Eiwachstum. Je größer hier die Masse der Hilfszellen (im Vergleich zur Eizelle) wird, desto verschleierter, undeutlicher werden die das Wachstum bedingenden Faktoren am Keimbläschen des Eies selbst sein. Die Kerne der Nähr- und Follikelzellen nehmen dem Keimbläschen seine Arbeit zum großen oder größten Teil ab. Diese Hilfszellen verarbeiten auf kleinen und oft zahlreichen Plasmaterritorien die Nährstoffe und lassen sie dem Ei mühelos zufließen. Daher die Kleinheit und Passivität des Eikernes bei diesem Wachstumstypus.

Wir beginnen unsre Untersuchung mit dem

1. Nutrimentären Eiwachstum.

a) Nährzelleinrichtungen.

1. Das Schulbeispiel für die Ernährung des Eies von einer einzigen Nährzelle (= abortive Eizelle) ist *Ophryotrocha* (Fig. 1—3, Taf. I). Nach den Bildern von Korschelt (93) zeigt der Eikern während des bedeutenden Eiwachstums nur die oben bemerkte geringe Volumzunahme und eine große Einförmigkeit seiner chromosomalen Strukturen. Desto mehr ist der Kern der Nährzelle gewachsen; er hat ja die Ernährung des Eies in der Hauptsache zu besorgen, so lange, bis dieses in den Stand gesetzt ist, sich selbständig aus der Leibesflüssigkeit her zu ernähren. —

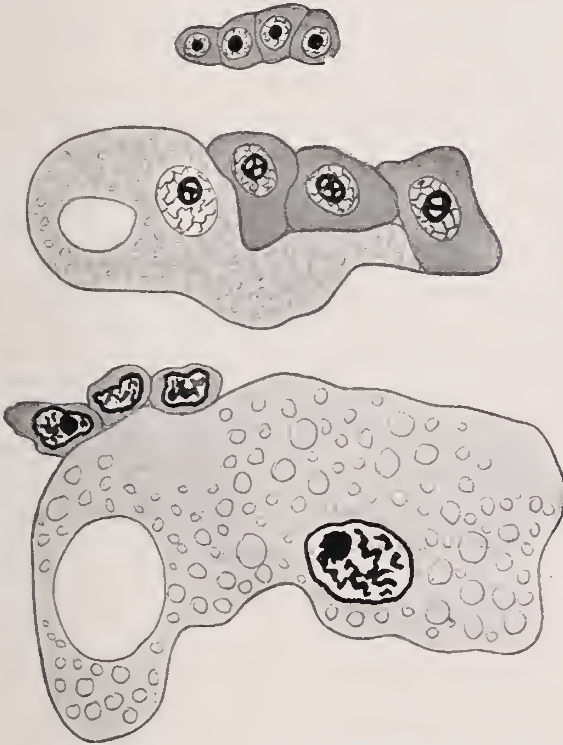
In diese Wachstumskategorie gehören die Eier von *Sacculina carcini* (van Beneden 70, Delage 84). Hieran schließt sich *Myzostoma* (Wheeler), mit zwei Nährzellen. Da diese aber nur relativ kleine Kerne besitzen, muß der Eikern selbst das Eiwachstum übernehmen; wir sehen ihn daher auch stark vergrößert.

2. Zu den vierzelligen Keimgruppen (mit drei Nährzellen) gehören besonders viele Crustaceen. Das instruktivste Beispiel ist wohl (nach Ludwigs [74] Angaben) *Apus*, dessen Eikern stets klein und unbedeutend bleibt (Fig. 4—6, Taf. I), während die Nährzellkerne groß und chromatinreich sind und ihre Plasmamassen bis zu ihrer eignen völligen Erschöpfung in das Ei hineinsecernieren.

Zu diesen Tetradenkeimgruppen lassen sich — neben vielen andern — besonders die Sommereier der Daphniden (nach Weismann) stellen, deren Eikerne gleichfalls dauernd klein bleiben. Ich habe diese Keimgruppen nach den neuen cytologischen Angaben von Kühn (1908) in Textfig. 1 wiedergegeben.

Hier möchte ich auch das *Branchipus*-Ei anschließen, das zwar eine unregelmäßige Anzahl von Nährzellen hat, bei dem man aber ganz wundervoll die Passivität des Eikernes verfolgen kann. Dieser behält während des — doch ganz gewaltigen — Plasmawachstums seine ursprüngliche Größe bei (Taf. I, Fig. 10 nach A. BRAUER 92).

Textfig. 1.



3 Stadien der nutrimentären Eientwicklung von *Daphnia pulex* (nach KÜHN 08).

3. Sehr zahlreiche (bis zu 50) Nährzellen bzw. abortive Eizellen finden sich bei *Piscicola*, deren Eibildung ich eine besondere Arbeit gewidmet habe (Fig. 7—9, Taf. I). Auch hier ist die Einförmigkeit im Volumen und in der Struktur des Eikernes das einzig Auffällige.

Die gleiche Eikernpassivität kann man auch bei *Bonellia* beobachten, die für uns noch dadurch interessant ist, daß sie (nach SPENGEL 79) eine centrale Cytophorenzelle besitzt, wie sie wahrscheinlich auch bei *Piscicola* vorkommt (Fig. 11 u. 12, Taf. I).

4. Hieran schließen sich jetzt die Eizellen, die eine wechselnde Anzahl von Nährzellen besitzen. Betrachten wir zuerst *Nephelis*, bei der viele Eier miteinander verschmelzen, um als Nährzellen das Reifei zu ernähren (Fig. 13—15, Taf. I, nach Jörgensen 1908). Der Kern bleibt auch hier im Vergleich zum Eiwachstum klein, wenngleich seine komplizierten Chromatinmanöver ihn (am Eiwachstum) nicht ganz unbeteiligt erscheinen lassen.

Textfig. 2.



Eischlauch einer Libellenlarve (nach Mc. Gill, 06). Der im Original viel längere Eischlauch ist verkürzt dargestellt zur Demonstration des nucleären Eiwachstums bei Insekteneiern ohne Nährvorrichtungen.

Hierher wollen wir schließlich noch jene Fälle unregelmäßiger Nähreinrichtungen stellen, bei denen — wie bei dem Wurm *Diopatra* oder wie bei den parasitischen Copepoden (Lernäopoden und Notodelphiden) lange Zellfäden zahlreicher Abortiveier das Reifei ernähren (Korschelt u. Heider 1902, S. 351). (Fig. 16 u. 17, Taf. I.)

b) Follikuläre Ernährung des Eies.

Sehr schön läßt sich die — je nach dem nutrimentären oder nucleären Eiwachstum — differente Struktur des Eikernes bei den Insekten nachweisen.

1a. Die meroistischen[1]) Eiröhren der Orthopteren, Coleopteren, Hemipteren u. a. haben während ihres meist riesigen Eiwachstums nur

[1]) Meroistische Eiröhren = Eiröhren mit Nährzellen; panoistische Eiröhren = Eiröhren ohne Nährzellen (Brandt 1874).

winzig kleine Kerne, die immer auf der Größe der jüngsten Oocytenkerne stehen bleiben (siehe die Fig. 22—24, Taf. I, nach KORSCHELT und HEIDER 1902). Noch besser kann man die völlige Passivität des Eikernes beim Eiwachstum am *Forficula*-Ovar (Fig. 25, Taf. I, nach KORSCHELT 1902) und am Bienenovar (Fig. 26 u. 27, Taf. I, nach PAULCKE 00) demonstrieren. Die Kerne des ausgewachsenen *Forficula*- und Bieneneies sind genau so groß, wie die ganz junger Oocyten, obwohl doch das Plasma um viele tausend Volumeinheiten zugenommen hat.

1b. Sehr lehrreich ist der Vergleich mit den panoistischen[1]) Eiröhren gewisser Insekten, bei denen — wenigstens die jungen Eier — spezieller Nähreinrichtungen entbehren. Ich verweise hier auf Fig. 16—18, Taf. II, ein Grillenovar und auf Textfig. 2, ein Libellenovar (nach Mc GILL 1906). Beide zeigen während der fraglichen Stadien eine dem Zellwachstum äquivalente Volumzunahme des Kernes.

Diese Differenz der Kernstrukturen findet sich nicht nur bei verschiedenen Species, sondern sogar bei den Sommer- und Wintereiern ein und desselben Tieres. Als Beispiel diene uns das Aphidenei nach den Untersuchungen BUCHNERS (12). Die Sommereier sind auf eine schnelle Massenproduktion eingestellt. Sie besitzen deshalb nur eine kleine Nährkammer und keinen Follikel, dagegen einen großen Eikern, der seiner Größe und Struktur nach das Eiwachstum beeinflußt (Textfig. 3). Ganz anders sind dagegen die langsam wachsenden Wintereier gebaut. Sie haben zwei, wohl ausgebildete Nährvorrichtungen in der großen Nährkammer und dem dichten Follikelepithel. Der Eikern ist dagegen dauernd klein und verhält sich scheinbar völlig passiv bei dem nur langsamen Eiwachstum (Textfig. 3).

Die Fälle der wohl ausgebildeten Nährvorrichtungen bei Insekten sind Legion und dementsprechend lassen sich auch beliebig viele weitere Beispiele über die gleichzeitige Passivität des Eikernes im wachsenden Insektenei beibringen. Ohne auch nur im geringsten an eine erschöpfende Behandlung des Gegenstandes zu denken, möchte ich hier nur noch erwähnen, daß sich diesem Typ des Eiwachstums anschließen folgende cellulär untersuchten Formen:

IV. Ordn. Neuropteren; 1. Unterordn. Planipennien: *Sialis fuliginosa*; *Chrysopa perla*; und *vulgaris* (nach GROSS 1903). 2. Unterordn. Trichopteren: *Anabolia* (nach STUHLMANN 86).

V. Ordn. Coleopteren :*Silpha obscura* (nach GROSS 1903).

---

[1]) l. c. S. 7.

VI. Ordn. Hymenopteren: *Vespa vulgaris* (Gross 1903); *Bombus terrestris*; *Trogus lutorius*; *Pimpla* (Ephialtes); *Anomalon circumflexum*; *Lampronota*; *Ophion ventricosum* und *luteum*; *Ambyteles castigator* (nach Stuhlmann 86).

Textfig. 3.

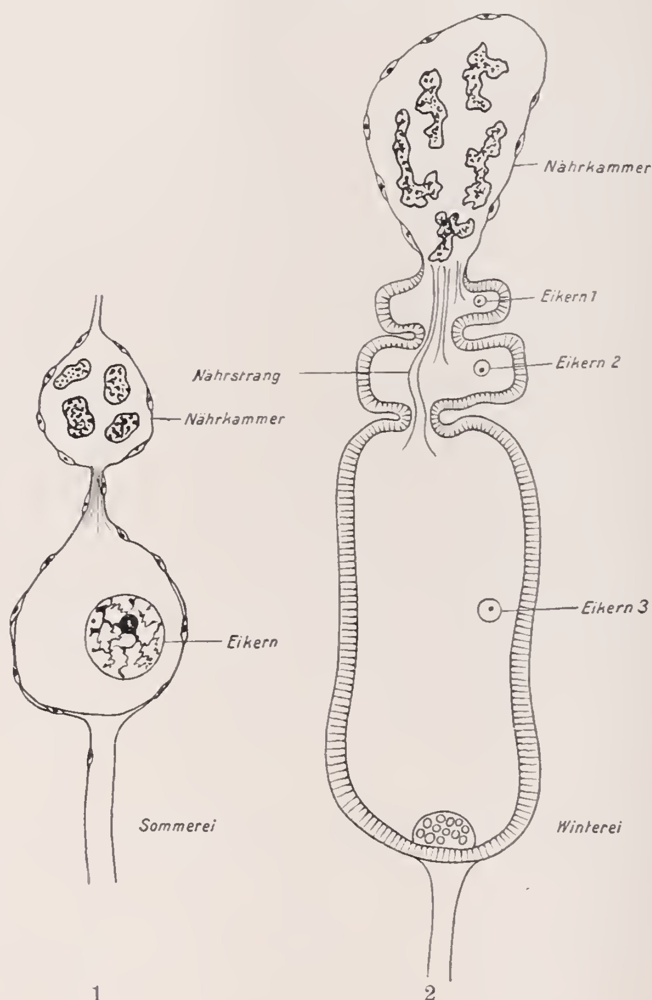


Fig. 1. Sommerei von *Aphis*; mit kleiner Nährkammer, ohne Follikel und relativ großem Eikern.
Fig. 2. Winterei von *Aphis*; mit großer Nährkammer und Nährsträngen mit gut ausgebildetem Follikelepithel und mit winzig kleinem Eikern.

VII. Ordn. Rhynchoten: *Triecphora vulnerata*; *Leptoterna dolobrata*; *Lopus gothicus* (nach Gross 1903); *Aphrophora spumaria* (nach Stuhlmann 86); Cicaden (nach Buchner 1912).

VIII. Ordn. Dipteren: *Tipula oleracea; Bibio marci* und *hortulana; Tabanus tropicus; Xanthogramma citrofasciata; Helophilus floreus* (Gross 1903); *Musca vomitoria* (Stuhlmann 86).

X. Ordn. Lepidopteren: *Cidaria plicata; Abraxas marginata; Spilosoma menthastri* (Gross 1903); *Vanessa urticae* (Korschelt u. Heider 1902); *Pieris brassicae; Sphinx ligustri* (Stuhlmann 86).

Leider sind in vielen Arbeiten immer nur Ausschnitte des ganzen Eies gegeben, so daß man die uns interessierende Gesamtgröße des Eies nicht ersehen kann.

Schon Lécaillon (01) und Lubosch (in seiner Zusammenfassung 02) haben festgestellt, daß das Keimbläschen der Insekteneier »eine völlig untergeordnete Rolle spielt. Es ist so klein, daß es im Verhältnis zu der ungeheuren Eizelle überhaupt kaum in Betracht kommt.«

2. Was hier für die Klasse der Insekten durchgeführt ist, hat nun auch Geltung für alle Eier aller Tierstämme, die von frühen Oocytenstadien an gut ausgebildete Nährvorrichtungen zur Verfügung haben. Als besonders instruktives Beispiel möchte ich hier nur noch das *Octopus*-Ei erwähnen (Fig. 18—20, Taf. I). Während des bekanntlich sehr großen Eiwachstums bleibt der Kern dauernd so klein wie bei den jüngsten Oocyten. Der Eikern ist scheinbar ganz unbeteiligt am Eiwachstum, das der Tätigkeit des in zahlreichen Falten ins Ei eindringenden Follikelepithels zuzuschreiben ist (Fig. 21, Taf. I).

2. Solitäres Eiwachstum (Tafel II).

Ganz anders verhalten sich dagegen Eier ohne besondere Ernährungseinrichtungen. Diese Eier müssen — sei es für das ganze Eiwachstum überhaupt, sei es nur für die erste große ooplasmatische Wachstumsperiode — in sich selbst die Fähigkeit des Plasmawachstums besitzen, da ihnen kein Nährmaterial von Hilfszellen geliefert wird.

Bei ihnen finden wir folgende Veränderungen

1. des Kernes:

a) Das Kernvolumen nimmt in vielen Fällen proportional dem Zellwachstum zu.

b) Dabei findet meist ein beträchtliches Wachstum des fädigen Oxychromatins (= chromosomale Substanz) statt.

c) Dagegen wird die Erwartung, daß solitär wachsende Eier wegen ihrer intensiven Wechselbeziehungen zwischen Kern und Protoplasma auch große Mengen von Nucleolarsubstanz besitzen müßten, nicht bestätigt. Die von Montgomery (99) postulierte Abhängigkeit der Menge der Nucleolarsubstanz von der Intensität des Kernplasmastoffwechsels ist nicht richtig (Allgemeiner Teil, Abschnitt 2).

2. des Plasmas:

In vielen Fällen tritt im Eiplasma ein specifischer, basichromatischer Körper auf, der einerseits beim Eiwachstum beteiligt ist, anderseits die Matrix für die definitiven Dottergranula bildet.

a) Kernvergrößerung bei solitärem Eiwachstum.

Beispiele für diesen Wachstumstypus finden sich in allen Tierstämmen. Ich begnüge mich damit, von jedem Stamm einen Repräsentanten bildlich anzuführen (Taf. II).

1. Bei Schwämmen (Sykonen) konstatieren wir (nach Jörgensen 10) ein bedeutendes Kernwachstum, das dem Zellwachstum annähernd proportional ist. Sollte der Kern auf späteren Wachstumsstadien — im Vergleich zum Plasmawachstum — etwas zurückbleiben, so ist dies wohl darauf zurückzuführen, daß die älteren Eizellen zahlreiche Schwesterzellen auffressen (Fig. 1—3, Taf. II).

2. Die gleiche Kernzunahme ist auch bei den solitär wachsenden Cölenterateneiern zu konstatieren, die nicht allzu große Dottermassen speichern, wie z. B. *Pelagia* (Fig. 4—7, Taf. II). Auch hier tritt gegen Ende des Eiwachstums eine spezielle Nährvorrichtung in Gestalt der »Zellenkrone« auf. Deshalb bleibt gleichfalls gegen Ende des Eiwachstums das Kernwachstum (im Vergleich zur Plasmazunahme) etwas zurück.

3. Ähnliche Verhältnisse finden sich bei den Würmern, bei denen als Beispiel eines solitär wachsenden Eies *Sagitta* angeführt sei. Da gegen Ende des Eiwachstums große Massen von Nährsubstanz von den Darmzellen an die eng anliegenden Eizellen geliefert werden, bleibt auch hier der Kern schließlich hinter dem Eiwachstum zurück (Fig. 8—11, Taf. II.)

4. Ziemlich reine Fälle von proportionalem Kernwachstum finden wir bei den dotterarmen Echinodermeneiern, bei denen, wie bei *Asterias* (Fig. 12—15, Taf. II) Kern und Plasma gleichmäßig an Volumen zunehmen.

5. Von den Mollusken wollen wir bildlich nur *Paludina* anführen (Fig. 19—21, Taf. II, nach Popoff 07), bei der die gleiche Kernzunahme festzustellen ist. Auch die auf Taf. II *a* und *b* dargestellten Serien von *Patella*-Eiern geben einen guten Begriff von der annähernden Parallelität zwischen Kern und Plasmawachstum. Wie beträchtlich die Kernzunahme bei einem solitär wachsenden Ei sein kann, erhellt am besten aus den Fig. 22—25, Taf. II, die uns die Kernvolumina des

wachsenden *Patella*-Eies zeigen, und aus den Fig. 26—28, Taf. II, die den bis dahin ebenfalls solitär wachsenden *Proteus*-Eiern entnommen sind. Vergleichen wir diese enorm gewachsenen Kerne mit den winzigen Kernen der nutrimentär wachsenden Eier von *Branchipus* (Fig. 10, Taf. XVII); *Octopus* (Fig. 20, Taf. I); *Forficula* (Fig. 25, Taf. I) und der Biene (Fig. 27, Taf. I), so wird uns der Unterschied zwischen beiden Wachstumstypen am besten klar. Wie wir uns nun im einzelnen den Einfluß des vergrößerten Kernes vorzustellen haben, darauf läßt sich bei den heute bekannten Daten keine Antwort geben. Sicher ist nur die eine morphologische Tatsache, daß geformte Substanzen nicht aus dem Kern ins Cytoplasma übertreten. Man hat ja bei den verschiedensten Objekten z. B. GATHY (00) (bei Anneliden), FICK (99) (für Amphibien) u. a. den Durchtritt von Nucleolen durch die Kernmembran und ihre Umwandlung in Dotterelemente behauptet. Demgegenüber haben aber schon die älteren Autoren BORN, RÜCKERT, HÄCKER, BOUIN, GIARDINA und CARNOY Stellung genommen. Bei neueren Autoren kommt wohl dieser auf technische Mängel zurückführbare Nucleolenaustritt nicht mehr vor. Er ist von dem Chromidienaustritt abgelöst worden, der von einigen Forschern (z. B. SCHAXEL) bei allen Objekten gefunden wird, die von ihnen untersucht werden. An andrer Stelle (S. 25) habe ich diese Ansicht zurückgewiesen.

Misch- und kombinierte Fälle.

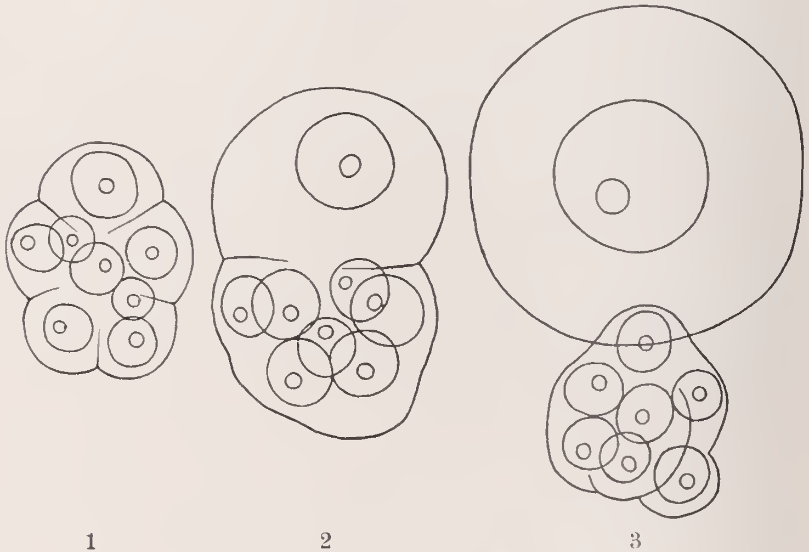
Wir haben bisher nur möglichst extreme Fälle herangezogen, bei denen in der Hauptsache entweder nur das nutrimentäre, oder nur das solitäre Eiwachstum verwirklicht war. Es ist nun aber doch denkbar und kommt in der Tat sehr häufig vor, daß ein Ei nach beiden Wachstumstypen zugleich wächst.

Es ist denkbar, daß ein Ei während seiner ersten ooplasmatischen Wachstumsperiode z. B. rein solitär (ohne Hilfszellen) wächst; während seiner zweiten deutoplasmatischen Periode bildet es dagegen einen Follikel aus, der das Ei bei seinem Riesenwachstum durch Secretion von Nährsubstanzen unterstützt. Diese Fälle der zeitlich aufeinanderfolgenden Wachstumstypen möchte ich als kombinierte Fälle bezeichnen. Sie sind — wie wir gleich sehen werden — z. B. bei den Amphibien verwirklicht.

α) Es ist aber weiterhin auch denkbar, daß gleichzeitig ein Ei wächst sowohl mit Hilfe von Nährzellen, als auch mit Hilfe seines stark herangewachsenen Kernes. Diese Fälle, die wohl überhaupt am häufigsten verwirklicht sind, möchte ich als Mischfälle bezeichnen.

Wir haben schon bei Schwämmen gesehen, wie der Kern gegen Ende des Wachstums etwas gegenüber dem Plasma zurückbleibt. Warum? — Hier waren es zwar keine Hilfszellen, sondern gefressene Zellen, die das im Vergleich zum Kernwachstum größere Plasmawachstum bedingten. Ähnlich lagen die Verhältnisse bei *Pelagia* und bei *Sagitta*. Bei *Pelagia* bedingte die Zellenkrone, bei *Sagitta* die unmittelbare Lage am Darm eine — im Vergleich zum Kern — größere Zunahme des Plasmas. Wir

Textfig. 4.



Ei- und Nährzelle von *Tomopteris*. (Nach Dons, 09.)

müssen annehmen, daß die Zellenkrone wie der Darm aktiv Substanzen in das Ei hineinsecernieren.

In all den Fällen, wo wir also gegen Ende des Wachstums eine Verschiebung der Kernplasmarelation des Eies zugunsten des Plasmas konstatieren können, sind wohl derartige Hilfsfaktoren bei dem Wachstum des Eies tätig. [Auf das basophile Ergastoplasma werden wir in einem besonderen Abschnitt, Seite 23, eingehen.]

Es ist natürlich nicht leicht, beide Typen des nutrimentären und solitären (sagen wir hier »nucleären«) Wachstums gegeneinander — prozentualiter — abzugrenzen. In der Hauptsache wird man doch aber sagen können, wie z. B. in unsern bisher erwähnten Fällen, daß das eine Ei in der Hauptsache mit Hilfe seiner extraovocytären Nährzellen wächst, während das Wachstum eines andern Eies in der Hauptsache bedingt



Wachstumsstadien des *Proteus*-Eies (nach Jörgensen, 1911). Fig. *1—4*. Ooplasmatisches Wachstum mit großer Kernzunahme und gering ausgebildetem Follikel. Fig. *5*. Deutoplasmatisches Wachstumsstadium mit — relativ — kleinem Kern und wohl entwickeltem Follikel. Alle Fig. bei gleicher Vergr.

wird durch die enorme Vergrößerung des Kernes (durch seine Kernplasmaspannung — zugunsten des Kernes).

Von den äußerst zahlreichen Beispielen des gemischten (nutrimentären + gleichzeitig »nucleären«) Eiwachstums möchte ich hier nur eines anführen: die Ei- und Nährzellen von *Tomopteris* (nach Dons 1910).

In Fig. 1 der Textfig. Nr. 4 sehen wir acht annähernd gleich große Zellen. Von diesen nimmt eine durch ihren größeren Kern eine Sonderstellung ein und wächst bei weiterer ziemlicher Kernvergrößerung zum Ei heran. Gleichzeitig secernieren die übrigen sieben abortiven Eizellen Nährstoffe in das Ei hinein. Der dem Eiwachstum also nur zum Teil vorstehende Eikern wird von den sieben Nährzellen unterstützt.

Wir können in diesem Falle also wohl sagen, das Eiwachstum ist zur Hälfte als ein »nucleäres«, zur andern Hälfte als ein nutrimentäres zu bezeichnen.

β) Sehr häufig kommen nun auch kombinierte Fälle zwischen beiden Typen vor, derart, daß während der ersten ooplasmatischen Wachstumsperiode des Eies der Eikern diesem Wachstum vorzustehen scheint, indem er beträchtlich an Volumen zunimmt und große Massen chromosomaler Substanz ausbildet (Fig. 1—4, Textfig. 5). Der Follikel ist dann während dieser ooplasmatischen Wachstumsperiode überhaupt nicht (Fig. 1—3) oder nur gering (Fig. 4) ausgebildet. Zu Beginn des deutoplasmatischen Eiwachstums vermehren sich seine Elemente und tragen von jetzt ab zum Eiwachstum bei, indem sie große Mengen von Nährsubstanzen in das Ei hineinsecernieren. — Der Eikern verhält sich während dieser zweiten, deutoplasmatischen Wachstumsperiode ziemlich inaktiv. Seine Volumzunahme wird sistiert, seine chromosomalen Komponenten werden zurückgebildet. Fig. 26—28, Taf. II, zeigen uns die enorme Kernzunahme des anfänglich solitär wachsenden *Proteus*-Eies. Wir sehen die riesige Ausbildung der Chromosome, die bei dem weiteren deutoplasmatischen Wachstum zurückgebildet werden [Fig. 29, Taf. II und Textfig. 5 (Fig. 1—5)].

Diese gemeinsame Tätigkeit der beiden zeitlich aufeinanderfolgenden und sich ablösenden Wachstumstypen ist sehr häufig und findet sich in vielen Fällen von Riesenwachstum der Eier, so bei Insekten, Spinnen, Diplopoden, Fischen, Amphibien, Reptilien und Vögeln (Taube). Die erste ooplasmatische Wachstumsphase steht im wesentlichen unter dem Einfluß des Keimbläschens, die spätere Speicherung von Dottermassen ist die Aufgabe des bei diesen Formen meist gut ausgebildeten Follikelepithels. — Den dritten beim Riesenwachstum und bei der Dotterbildung

dieser Eier mitwirkenden Faktor, die basichromatischen Ergastoplasmen des Eiplasmas werde ich im II. Hauptteil gesondert betrachten.

Als Beispiel will ich nur noch das nucleär wachsende Insektenei bildlich heranziehen. In den panoistischen[1]) Eiröhren vieler Insekten wächst der Kern anfangs proportional dem Eiplasma (Textfig. 2 = Libellenovar und Fig. 16, Taf. II, = Grillenovar). Da anfangs keine speziellen, cellulären Nähreinrichtungen des Eies vorhanden sind, so muß der Eikern selbst sein Volumen vergrößern und beträchtliche Mengen chromosomaler Substanzen ausbilden, wie die Fig. 16 und 17, Taf. II, und die cytologischen Bilder der Fig. 72—77, Taf. IV, zeigen. Erst wenn das Ei eine beträchtliche Größe erreicht hat, bildet sich allmählich der Follikel aus. Jetzt wird das »nucleäre« Eiwachstum vom nutrimentären (in diesem Fall follikulären) abgelöst (Fig. 18, Taf. II). Aber auch jetzt noch ist an der Größe des Eikernes der frühere nucleäre Wachstumstypus zu erkennen, besonders wenn man den Kern des fast ausgewachsenen Grilleneies (Fig. 18, Taf. II) mit dem Kern eines von Anfang an nutrimentär gewachsenen Insekteneies vergleicht, z. B. mit dem Bienenei (Fig. 27, Taf. I).

Der nucleäre Wachstumstypus (oder seine soeben beschriebene Kombination) findet sich bei allen Insekten mit panoistischen Eiröhren; also bei den Thysanuren, Ephemeriden, Plecopteren, Thysanopteren, Odonaten und Orthopteren (nach Gross 1903, S. 163).

b) Ausbildung der chromosomalen Substanz des Eikernes bei solitärem Eiwachstum.

Dieser Wachstumstypus ist nicht allein durch die Größe des Eikernes charakterisiert, sondern auch durch die beträchtliche Ausbildung seiner Chromosome. Es ist ja zu erwarten und in den meisten Fällen in der Tat nachzuweisen, daß die chromosomale Substanz proportional dem Kernwachstum zunimmt. Allbekannt sind ja im wachsenden Fisch- und Amphibienei die Lampenbürstenchromosome, die eine Form der Oberflächenvergrößerung der wirksamen, chromosomalen Substanzen — in dem an und für sich schon excessiv großen Kern — sind (Fig. 27—29, Taf. II). Ähnlich gebaute Chromosome finden sich auch bei andern Tierstämmen, die größere Eier aufweisen, z. B. bei Würmern (*Sagitta*), bei Crustaceen (*Astacus*), bei Echinodermen (*Echinaster*) u. a.

Bei den Eiern des solitären Wachstumstypus, die — entsprechend ihrem geringen Plasmawachstum — auch nur ein (im Vergleich zum

---

[1]) panoistische Eiröhren = solche ohne Nährzellen.

Fisch- und Amphibienei) mäßiges Kernwachstum zeigen, finden sich demgemäß auch keine Federbesenchromosome. Trotzdem findet ein beträchtliches Chromosomenwachstum statt, das besonders nach der Wachstumsperiode kenntlich wird durch das Abschmelzen der jetzt unbrauchbar gewordenen chromosomalen Massen (siehe besonders: Schwämme, *Pelagia*, *Paludina* u. a.). Nur ein allerkleinster Bruchteil der Chromosome bleibt erhalten und liefert die Richtungsspindeltetraden.

Ganz anders verhält sich das Chromatin in den Eikernen nutrimentärer Eier. Ich erinnere an die auf Taf. I dargestellten Eier mit ihren winzigen Kernen, deren Chromatin während des langen Eiwachstums ziemlich gleichförmig bleibt (*Ophryotrocha*, *Apus*, *Branchipus*, *Piscicola*, *Oktopus*, *Forficula*, Biene) und völlig der komplizierten Metamorphosen entbehrt, wie sie z. B. bei *Sycon*, *Sagitta*, bei Fischen und Amphibien bekannt sind.

c) Ausbildung der nucleolären Substanzen des Eikernes bei »nucleärem« Eiwachstum.

A priori könnte man nun erwarten, daß in solitär wachsenden Eiern

1. mit der Ausbildung der Chromosome die Ausbildung des Nucleolarapparates Hand in Hand ginge. Viel chromosomale Substanz = viel Nucleolen.

2. Oder man könnte mit Montgomery (99) annehmen, daß bei großer Intensität des Stoffwechsels zwischen Kern und Zelle — wie sie ja bei dem »nucleären« Eiwachstum verwirklicht ist — auch große Mengen von Nucleolarsubstanz gebildet würden.

3. Oder aber man könnte mit Häcker (95, 99, 11) annehmen, daß bei großen dotterreichen Eiern viele Nucleolen gebildet werden, u. a. m.

Alle diese Annahmen treffen nicht zu. Von all den erwähnten Faktoren und noch manchen andern ist die Entwicklung des Nucleolarapparates völlig unabhängig. Wir wollen an dieser Stelle nicht auf diese interessanten Tatsachen eingehen, sondern verweisen auf den allgemeinen Teil, Abschnitt 1—5, in dem diese Abhängigkeits- bzw. Unabhängigkeitsverhältnisse der Nucleolarsubstanz eine eingehende Besprechung erfahren werden.

Zusammenfassung.

Fassen wir die oben berichteten Tatsachen zusammen, so finden wir folgende erste allgemeine Gesetzmäßigkeit:

Die Größe und Struktur des Eikernes ist abhängig von der Ausbildung der Ernährungsvorrichtungen des Eies. Von Hilfszellen gut

ernährte Eier besitzen einen kleinen — bezüglich seiner chromosomalen Strukturen — einförmigen Kern; solitär, d. h. ohne Hilfszellen wachsende Eier weisen einen im Vergleich zum Plasma großen Kern mit reichlicher Entwicklung der chromosomalen Substanz auf.

Auf Grund dieser morphologischen Tatsache können wir schließen, daß in vielen Fällen der Eikern — in der Hauptsache wohl allein — das Wachstum der solitär sich vergrößernden Eier auslöst. [Auf den eventuell auf das Plasma entfallenden Anteil beim Eiwachstum gehe ich im Hauptteil II näher ein.]

Nach den von R. Hertwig (03) in die Wissenschaft eingeführten Vorstellungen über das Wechselverhältnis zwischen Kern und Zelle (= Kernplasmarelation) könnten wir sagen: das Eiwachstum des solitär wachsenden Eies wird bedingt durch eine Kernplasmaspannung, die hervorgerufen ist durch eine excessive Vergrößerung des Eikernes. Das Ei wächst so lange, bis das zugunsten des Kernes gestörte Gleichgewicht zwischen Kern und Plasma wieder hergestellt ist. Diese Vorstellung trifft aber nur für die rein »nucleär« wachsenden Eier zu.

Das Wachstum aller nutrimentär wachsenden Eier (Taf. I) ist aus dem Prinzip der Kernplasmarelation heraus nicht zu erklären. Alle Eizellen, deren Wachstum nur auf Kosten der Hilfszellen vor sich geht, besitzen ja einen minimalen Eikern, der mit dem Eiwachstum nichts zu tun hat. Dieses erfolgt durch die aktive Secretion der Nähr- und Follikelzellen in das Ei hinein. Deshalb besitzen diese Hilfszellen in vielen Fällen die enorm großen, chromatinreichen Kerne, z. B. *Ophryotrocha*, *Apus*, *Forficula*, Insekten, oder aber die Follikelzellen sind in ungeheurer Anzahl vorhanden.

Zu jedem Eiwachstum ist demnach eine bestimmte Menge von Chromatin erforderlich.

Je geringer das Zellwachstum, desto geringer die Masse dieser Substanzen; je größer das Zellwachstum, desto größer seine Masse.

Ihre Anordnung ist in den beiden Eiwachstumstypen (dem nutrimentären und dem solitären) verschieden; sie scheint aber für das Zellwachstum selbst belanglos zu sein.

Im einfachsten Falle können beide Chromatinarten (bei solitärer Eibildung) im Kern des Eies allein vorhanden sein; dann ist das Eiwachstum in der Hauptsache bedingt durch die nucleären Vorgänge am eignen Eikern.

Bei nutrimentärer Eibildung ist die nötige Chromatinmenge außer im Eikern (der meist keine Rolle beim Eiwachstum spielt) in zahlreichen Nähr- und vielen Follikelzellen angeordnet, die ihrerseits die Secretion

des Eiplasmas oder der Deutoplasmasubstanzen besorgen. Deshalb gleichen auch oft die Nucleolenverhältnisse der Nähr- und Follikelzellen denen, die sich bei solitärer Eibildung im Eikern selbst finden.

In den zahlreichen Nährzellen vieler Insekten (z. B. der Aphiden) finden sich band- und wurstförmige Nucleolenmassen, genau wie sie

Textfig. 6.

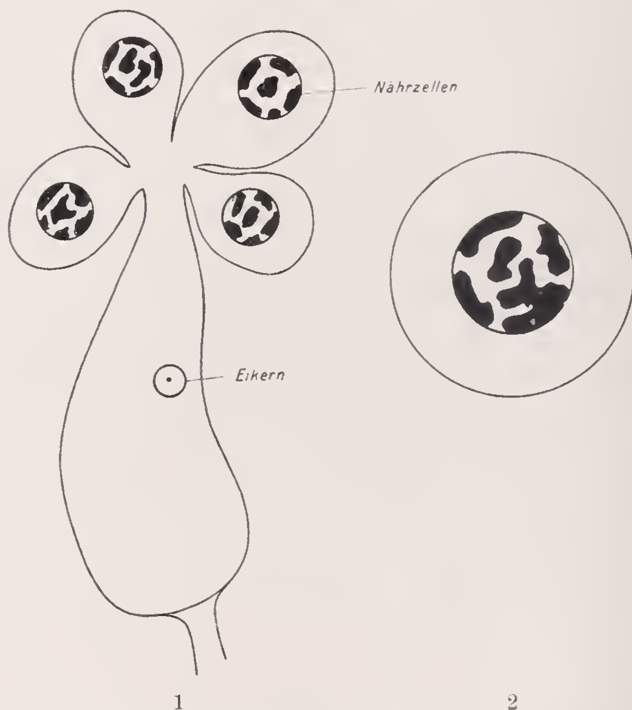


Fig. 1. *Aphiden*-Ei mit zahlreichen Nährzellen, die große Nucleolenmassen aufweisen.
Fig. 2. *Bombinator*-Ei, dessen Keimbläschen zahlreiche Nucleolen besitzen, die wahrscheinlich denen der Nährzellen physiologisch vergleichbar sind.

sich z. B. im Keimbläschen des anfangs solitär wachsenden *Bombinator*-Eies finden (siehe Textfig. 6).

Beiderlei Nucleolarmassen haben wahrscheinlich dieselbe physiologische Bedeutung, obwohl sie sich in dem einen Fall in zahlreichen Kernen vieler Nährzellen, im andern Fall aber in dem einzigen Kern des wachsenden Eies selbst finden.

Da die Nährzellen der Insekten (Giardina 1901, Gross 1903) und vieler andern Formen (*Piscicola*, *Nephelis*, Entomostraken u. a.) abortive Eizellen sind, so muß demnach eine Differenzierung der ursprünglich

einheitlich gebauten jungen Oocyten nach zweierlei Richtung hin stattgefunden haben. Die definitive Eizelle behält ihren kleinen Kern mit seinen Erbeinheiten; die abortiven Eier (= Nährzellen) bilden zwecks besserer Ernährung der Eizelle enorme Kerne mit riesiger Oberflächenvergrößerung und beträchtlicher Chromatizität aus. Dieser Arbeitsteilung ist — neben der Wirksamkeit des Follikels — das Riesenwachstum der dotterreichen Eier zu danken.

II. Hauptteil.

Im Eiplasma können zu Beginn des Wachstums verschiedene ergastoplasmatische Substanzen auftreten, die sich lebhaft vermehren und dadurch mit zum Riesenwachstum des Eies beitragen. Diese ergastoplasmatischen Substanzen bilden die Matrix für einen Teil der definitiven Reservestoffe.

Wir haben bisher festgestellt, daß Eizellen, die ohne Hilfszellen heranwachsen, einen relativ großen Kern aufweisen. Wir haben diese Behauptung begründet durch den Vergleich dieser Eier mit solchen, die bei extracellulären Nähreinrichtungen dauernd winzig kleine Kerne besaßen.

Wir haben daraus den Schluß gezogen, daß der vergrößerte Kern (die Kernplasmaspannung, R. Hertwig) das Eiwachstum dieser Gruppe von Eiern bedingt.

Hier ist es nun am Platze, diese Behauptung etwas einzuschränken.

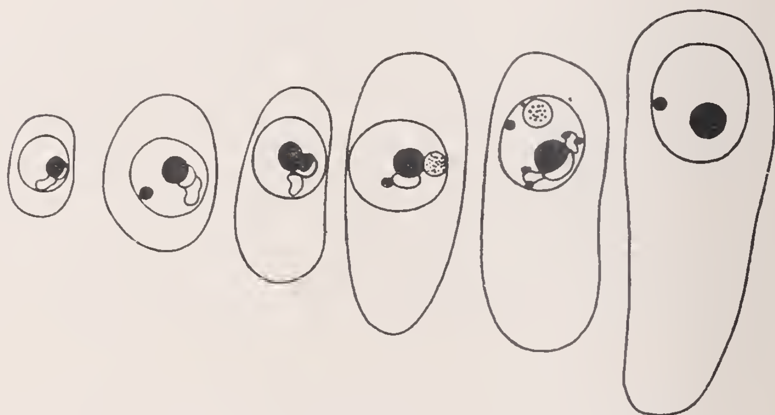
Ist in der Tat die Kernplasmaspannung (zugunsten des Kernes) der das Eiwachstum anregende und ihm — während seines ganzen Verlaufes — vorstehende Faktor, so müssen wir sie auch zahlenmäßig nachweisen können; und zwar dadurch, daß die anfänglich in der Eizelle vorhandene Kernplasmarelation während des ganzen Eiwachstums zum mindesten erhalten bleibt, eher aber noch etwas zugunsten des Kernes zunimmt.

Erst wenn das Eiwachstum beendet ist, kann der Kern sein Volumen einbüßen. In Parenthese sei hier erwähnt, daß sich schon R. Hertwig (08) vorgestellt hat, daß das Riesenwachstum des Eies durch periodisch auftretende Kernplasmaspannungen bewirkt wird. Als periodische Schwankungen im Zellgeschehen glaubte er die vielen, sich ablösenden Nucleolengenerationen von Carnoy und Lebrun (bei Amphibien) ansehen zu dürfen. Es hat sich nun aber herausgestellt, daß es periodische Schwankungen im Keimbläschen der Fische und Amphibien nicht gibt (Maréchal 06, King 08, Jörgensen 10). Wir können deshalb das Riesen-

wachstum des Eies nicht auf periodische Kernplasmaspannungen zurückführen, wenngleich es auf eine dauernd vorhandene, sich gleich bleibende Kernplasmaspannung zurückgeführt werden könnte. —

In der Tat liegen nun in der Literatur Fälle vor, wo die Kernplasmarelation während des langen Eiwachstums zwar nicht zugunsten des Kernes verschoben wird, aber doch annähernd gleich bleibt; wo wir also annehmen könnten, daß die anfänglich zugunsten des Kernes verschobene Kern-

Text-



	1	2	3	4	5	6
Kern-Plasma-relation $\frac{K}{P}$ =	$\frac{1}{1,5}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{6}$
Kernvolumen =	4,189 μ^3	15,080 μ^3	13,136 μ^3	21,790 μ^3	16,964 μ^3	29,053 μ^3
Zellvolumen =	6,668 μ^3	35,168 μ^3	29,234 μ^3	85,660 μ^3	75, 89 μ^3	167.298 μ^3

Während der Entwicklung des *Patella*-Eies wächst das Plasma schneller heran als der Kern. Dieser schließlich gegen Ende des Wachstums

plasmaspannung, die das anfängliche Wachstum bedingt, dauernd erhalten bleibt und so das Riesenwachstum des Eies herbeiführt.

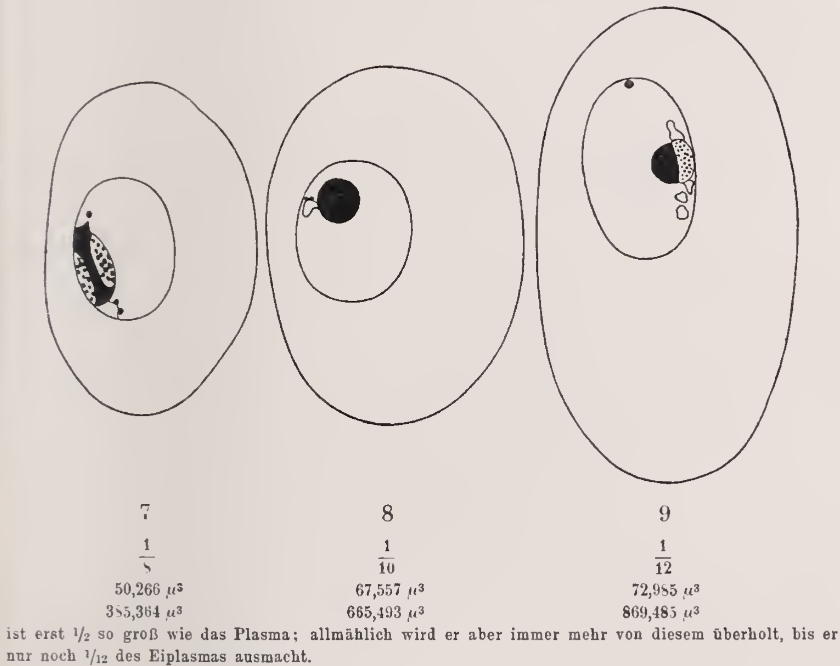
Lams (10, S. 44) stellt für *Arion* fest, daß die Kernplasmarelation während des ganzen bedeutenden Eiwachstums, bei dem die junge Oocyte eine 1400fache Volumvermehrung erfährt, konstant bleibt und immer $^1/_{16}$ beträgt. Theoretisch wäre also denkbar, daß der Kern in diesem Falle das Riesenwachstum des Eies bewirkt. [Bei *Arion* selbst ist es nicht der Fall. Bei seinen Eiern sind, wie wir später sehen werden, mehrere Faktoren beim Eiwachstum mit im Spiele.]

Diese Fälle von völliger Parallelität zwischen Kern und Eiwachstum sind aber doch recht selten. Unter meinem Material habe ich keinen

angetroffen. Bei zahlenmäßiger Prüfung nimmt immer (im Verlauf des ganzen Eiwachstums) das Plasma viel schneller an Masse zu als der Kern. Wir wollen hier nur das eine Beispiel der *Patella*-Eier anführen, bei dem alle extracellulären Hilfsernährungsfaktoren auszuschalten sind.

Prüfen wir bei diesen Eiern die Kernplasmarelation, so stellt sich heraus (Textfig. 7, Fig. 1—9), daß in jungen Eiern (Oocyten) das Volumen des Plasmas nur etwa $1^1/_2$mal so groß ist, wie das des Kernes

fig. 7.



ist erst 1/2 so groß wie das Plasma; allmählich wird er aber immer mehr von diesem überholt, bis er nur noch 1/12 des Eiplasmas ausmacht.

(Fig. 1). Bei weiterem Zellwachstum wird dann das Volumen des Eiplasmas erst zweimal (Fig. 2 u. 3), dann viermal (Fig. 4), dann fünf- und sechsmal und schließlich acht- bis zehnmal und zuletzt sogar zwölfmal so groß wie das des Kernes, der seinerseits auch ganz beträchtlich heranwächst.

Es ist also ganz sicher, daß auch bei solitär wachsenden Eiern das Plasma in den meisten Fällen schneller als der Kern heranwächst. Die anfänglich vorhandene Kernplasmaspannung wird also während des Eiwachstums nicht aufrecht erhalten, und trotzdem wächst das Ei.

Es sind nun zwei Erklärungsmöglichkeiten gegeben:

1. Einmal wächst der Kern ja auch heran, wenn auch nicht so stark wie das Plasma. Es könnte ja nun sein, daß die von ihm gelieferten

Substanzen (beziehungsweise die von ihm dem Plasma entzogenen Substanzen — diese Kontroverse wollen wir hier nicht anschneiden —) zum Plasmawachstum allein genügten.

Dann hätten wir eine Art biologische (vielleicht chemische oder fermentative) Kernplasmaspannung, die sich zahlenmäßig in Volumprozenten nicht ausdrücken ließe.

2. Oder aber, es gäbe außer dem Kern noch Substanzen im Plasma, die ihrerseits mit zum Riesenwachstum des Eies beitrügen.

Diese letzte Vermutung erscheint mir nun in der Tat sehr naheliegend, wie sich aus der näheren Betrachtung der plasmatischen Strukturen solitär wachsender Eier ergibt.

Nachweis ergastoplasmatischer Strukturen im Eiplasma und ihre Beteiligung am Riesenwachstum des Eies.

Einleitung.

Ein für diesen Zweck geeignetes Objekt scheint mir *Patella* zu sein. Ihre Eier besitzen keinerlei Nähr- oder sonstige Hilfszellen; bei dem kompakten Bau des Ovars scheinen auch alle »sekundären« Ernährungsfaktoren ausgeschaltet. Ich wähle das *Patella*-Ei außerdem noch deshalb, weil ich Gelegenheit hatte, fünf verschiedene Species auf ihre Eikerne hin genauer zu untersuchen (Taf. VIII—XI).

Kurze Beschreibung des *Patella*-Eies.

Die *Patella*-Eier sitzen während ihres ganzen Wachstums der Basalmembran des Keimepithels mit breiter Basis auf. Sie sind daher dauernd polar differenziert. Diese Differenzierung macht sich auch dadurch bemerkbar, daß die gut ausgebildete 4 μ dicke Zona radiata (Fig. 8, Taf. IIIa), die das ganze Ei umgibt, an der Eibasis nicht ausgebildet ist. Die Eier sind nur mit einer dünnen Hüllmembran, der hier und da ein Kern eingelagert ist, umgeben (Fig. 6—8, Taf. IIIa).

Die erwähnte Zona radiata wird erst während der zweiten, deutoplasmatischen Hälfte des Eiwachstums ausgebildet. Wie beim *Proteus*-Ei fällt auch hier ihr erstes Auftreten mit dem Beginn der Dotterspeicherung zusammen.

Das *Patella*-Ei ist ferner noch das eindeutigste Beispiel dafür, daß die Zona radiata auch vom Ei allein gebildet werden kann. Ich habe diese Auffassung schon für das *Proteus*-Ei vertreten, ohne dabei die gegenteilige, an andern Objekten gewonnene Ansicht von der Ent-

stehung der Zona radiata aus dem Follikelepithel in Zweifel zu ziehen. Es kann ja bei verschiedenen Objekten verschieden sein. Es ist nicht ausgeschlossen, daß bei Ablösung des Eies die der Zona radiata ermangelnde Eibasis den Mikropylapparat bildet. Erhebungen darüber wurden nicht angestellt.

Die erste ergastoplasmatische Substanz.

Schon in den jüngsten Oocyten findet sich im Eiplasma eine nur mit E.-H. färbbare Substanz (Fig. 1, Taf. IIIa).

Da sich diese Substanz nicht mit Chromatinfarben färbt, liegt auch für die Anhänger der Chromidienlehre kein Grund vor, sie als aus dem Kern ausgetretenes Chromatin anzusprechen.

Viele Autoren würden sie ohne weiteres als Mitochondrien bezeichnen. Auch diese Bezeichnung möchte ich ablehnen. Die als Mitochondrien bezeichneten Gebilde sind in verschiedenen Fällen auch verschiedene Substanzen, die sich nur gleichartig färben. Ist doch die Bendasche Mitochondrienfärbung ebensowenig eine specifische Färbung wie die sogenannten Kernfarbstoffe; d. h. sie färbt die allerverschiedensten Gebilde wie Stützfasern, Dotter-, Eiweißgranula u. a. m. und immer in demselben Farbtone.

Ich nenne daher diese fraglichen Substanzen im *Patella*-Ei ganz allgemein Ergastoplasma Nr. 1.

Diese Substanz wächst mit dem Ei heran (Fig. 2—7, Taf. IIIa). Sie ist erst grobschollig (Fig. 2) und strangförmig (infolge des schmalen Plasmasaumes, weshalb sie zuweilen auch mal die Kernmembran berührt); bei wachsendem Eiplasma zerstreut sie sich aber diffus in der ganzen Zelle (Fig. 4 u. 5). Hierbei zerstäubt sie in feinste Körnchen (Fig. 6), die nun bei der definitiven »Dotter«bildung eine enorme Vermehrung erfahren. Während in frühen Stadien nur gelegentliche Granula dieser ersten ergastoplasmatischen Substanz wahrgenommen werden (Fig. 6), erfüllen sie im ausgewachsenen Ei das ganze Plasma (Fig. 7 u. 8). Hierbei sind sie als kleine (mit E.-H. schwarz gefärbte) Granula um größere, hellere Eiweißkugeln gruppiert.

Es ist mir nicht zweifelhaft, daß diese erste ergastoplasmatische Substanz durch ihr scheinbar autonomes Wachstum und ihre riesige Substanzzunahme mit zum Riesenwachstum des Eies beiträgt.

Die zweite ergastoplasmatische Substanz

scheint mir einen noch größeren Anteil daran zu haben. Auf jugendlichen Stadien tritt im Eiplasma nämlich noch ein Körper auf, der die Fähigkeit besitzt (bei basisch-sauren Kernplasmafarbstoffgemischen) sich stark mit dem basischen Kernfarbstoff zu tingieren (Taf. IIIb). Dieser

basophile Körper, der auch in Pepsin und Trypsin unverdaulich ist, kommt bei den allerverschiedensten Tieren, wie wir noch sehen werden, vor und besitzt je nachdem auch verschiedene Struktur. Entweder ist er grobschollig und infolgedessen leicht darstellbar; oder aber er ist morphologisch nicht isolierbar, durchtränkt dann aber das Plasma so, daß es stark chromatisch erscheint (z. B. Fische und Amphibien).

Bei *Patella* sieht er in jungen Stadien (Fig. 2, Taf. IIIb) homogen, in älteren Stadien (Fig. 6) dagegen grobschollig — wie angefressen — aus.

In Fig. 1, Taf. IIIb, sehen wir eine junge Oocyte mit oxy-chromatischem Plasma. Dieses wird erst weniger, dann immer mehr chromatisch gefärbt (Fig. 2 u. 3). Bei weiterem Eiwachstum und bei weiterer — scheinbar selbständiger — Vermehrung dieser basichromatischen Substanz treten nun in ihr die großen Dottergranula auf. Fig. 3 zeigt deren erste Anlage, Fig. 4 und 5 deren weitere Ausarbeitung. Das basichromatische Ergastoplasma wächst indessen noch beträchtlich heran (Fig. 4—6). In dem Maße, wie aber die Dottergranula ausgebildet werden, verschwindet es. Seine Substanz geht in den Granula auf, mit denen schließlich die ganze Eizelle dicht angefüllt ist. In Fig. 7 sind die letzten Reste unsers rot gefärbten Ergastoplasmas am Kern und an der Zellperipherie sichtbar.

Dieses zweite Ergastoplasma tritt also spontan im Plasma auf, wächst enorm heran und ist die Muttersubstanz der großen Eiweißgranula, bei deren Ausbildung sie allmählich verbraucht wird.

Auch sie möchte ich, wie das erste Ergastoplasma, für einen Faktor ansprechen, der bewirkt, daß das Plasma des Eies schneller heranwächst als der Kern.

In einer gleichzeitig publizierten Arbeit über die Drüsenzellen von *Piscicola* habe ich eine ähnliche Substanz auch in den Drüsenzellen nachgewiesen. Wie ich bei jener Gelegenheit ausgeführt habe, existiert zwischen Drüsen- und Eizellen eine weitgehende Parallelität. Wie dort, so halte ich auch hier dieses basophile Ergastoplasma für ein sowohl Drüsen- wie Eizellen eignes »Prosecret«, das das Riesenwachstum der betreffenden Protoplasmen mitbedingt und die Matrix für die Drüsen- und einen Teil der Dottergranula abgibt.

Über die Herkunft dieser Substanz können wir uns kurz fassen. Sie stammt sicher nicht aus dem Kern, wie das Montgomery (99) für Drüsen und besonders Schaxel (10 u. 11) für Eizellen behauptet hat. Der Herkunft des Prosecrets in Drüsenzellen haben wir die erwähnte Arbeit gewidmet; über ihre Herkunft in Eizellen ist folgendes zu sagen:

Nach Schaxel soll sich das Keimbläschenchromatin bei *Pelagia* und Echinodermen zu einem centralen Nucleolus zusammenballen. Von

ihm sollen Abströmungsfortsätze an die Kernperipherie gehen (nach Schaxels Terminologie: Centrifugie des Karyochromatins), auf denen das Chromatin ins Plasma gelangt.

Diese Angaben stehen morphologisch ganz vereinzelt da. Ich selbst konnte mich weder bei *Pelagia*, noch bei Echinodermen, noch bei den zahlreichen andern Objekten, die mir vorlagen, von einer Verklumpung des Chromatins zu einem centralen »Nucleolus«, von Abströmungsfortsätzen und von der Bildung der sogenannten Kinetochromidien überzeugen.

Schaxel ist in seinen zahlreichen Arbeiten, bei seinem äußerst kleinen und ungünstigen Material immer demselben Irrtum des Fixierungsartefakts und der Beurteilung dieser Bilder unter der suggestiven Gewalt der Lehre vom Chromidialapparat zum Opfer gefallen.

Außerdem aber verhält sich das basichromatische Ergastoplasma ganz anders als das Chromatin. Wenn nämlich diese basophile Substanz in der Zelle erscheint, ist das Chromatin des Kernes gar kein »Chromatin« mehr, sondern ist Achromatin; es färbt sich ja mit sauren Plasmafarben und ist in kürzester Zeit verdaulich. Die basophile Nucleolarsubstanz hat aber, wie wir das im IV. Hauptteil untersucht haben (Taf. IV—VII für viele Objekte; Taf. VIII—XI speziell für *Patella*) mit einem Chromatinaustritt niemals das geringste zu tun.

Wie erwähnt, ist das Ergastoplasma in Pepsin und Trypsin unverdaulich; das Oxychromatin des Kernes schnell, die Nucleolen jeweils nach kürzerer oder längerer Zeit verdaulich. Also auch in diesem wichtigen Punkt verhält es sich anders als das Kern»chromatin«. Man darf sich nicht durch die basische »Chromatin«färbung des Ergastoplasmas täuschen lassen; sind doch die »Kernfarben« gar keine specifischen, nur etwa Kernsubstanzen darstellenden Farben: sie färben ja plasmatische Niederschlagsmembranen (Jörgensen 12), Glykogen-Stoffwechselprodukte, Stützfasern (Kemnitz 11), ja sogar Fette (Stiasny 10) und vieles andre. — Alle Chromidienforscher haben außerdem bisher eine äußerst wichtige Angabe übersehen, nämlich die von Mathews aus dem Jahre 1898, daß allein schon die Gegenwart irgendeiner organischen Säure im Cytoplasma [es braucht nicht einmal die Nucleinsäure zu sein] genügt, um dieses mit Kernfarbstoffen tingierbar zu machen. Diese wichtige Angabe hat schon Giardina (01), dem die starke Chromatizität des Plasmas (*Dytiscus*) auffiel, zu dessen Erklärung aufgegriffen. Er führt diese Basizität nicht auf die Gegenwart von Nucleinsäure im Plasma zurück, und hält auch die Annahme einer Wanderung der Nucleinsäure aus dem Kern in das Plasma für unnötig.

Wenn man diese auf Experimente gestützte Angabe von Mathews, die ich in meinem gleichzeitig erscheinenden Beitrag zur Chromidienlehre ausführlich behandeln werde, ihrem Werte gemäß berücksichtigt hätte, wären uns viele Irrtümer erspart geblieben.

Wir können demnach unsre Aussagen über das basophile Ergastoplasma folgendermaßen zusammenfassen.

1. Negative Kriterien.
   a) Es stammt nicht aus dem Kern, ist kein Chromatin.
   b) Es ist in Pepsin und Trypsin unverdaulich, enthält demnach also wahrscheinlich eine Nucleinsäurekomponente.
   c) Es enthält kein freies Eisen (wie z. B. ein Teil der Nucleolen).

2. Positive Kriterien.
   a) Es färbt sich mit basischen Kernfarbstoffen (in basisch-sauren Kernplasmafarbgemischen).
   b) Es besitzt die Fähigkeit — scheinbar selbständig — enorm heranzuwachsen und
   c) liefert die Dottergranula, bei deren Bildung es verbraucht wird.

Schon sehr vielen Forschern ist die intensive, basische Färbbarkeit des Eiplasmas in jungen Stadien und ihr allmähliches Abklingen bei der Dotterbildung aufgefallen.

Wegen dieser zahlreichen Angaben habe ich die Literatur nicht auf diesen Punkt hin durchgesehen, ich erinnere mich nur an die Angaben von Obst (99), Popoff (07), Jörgensen (10). Auch R. Hertwig (02) gibt an, das sich chromatische Substanz im Cytoplasma findet, die allerdings nur chemisch gebunden und nicht — wie im Kern — organisiert ist.

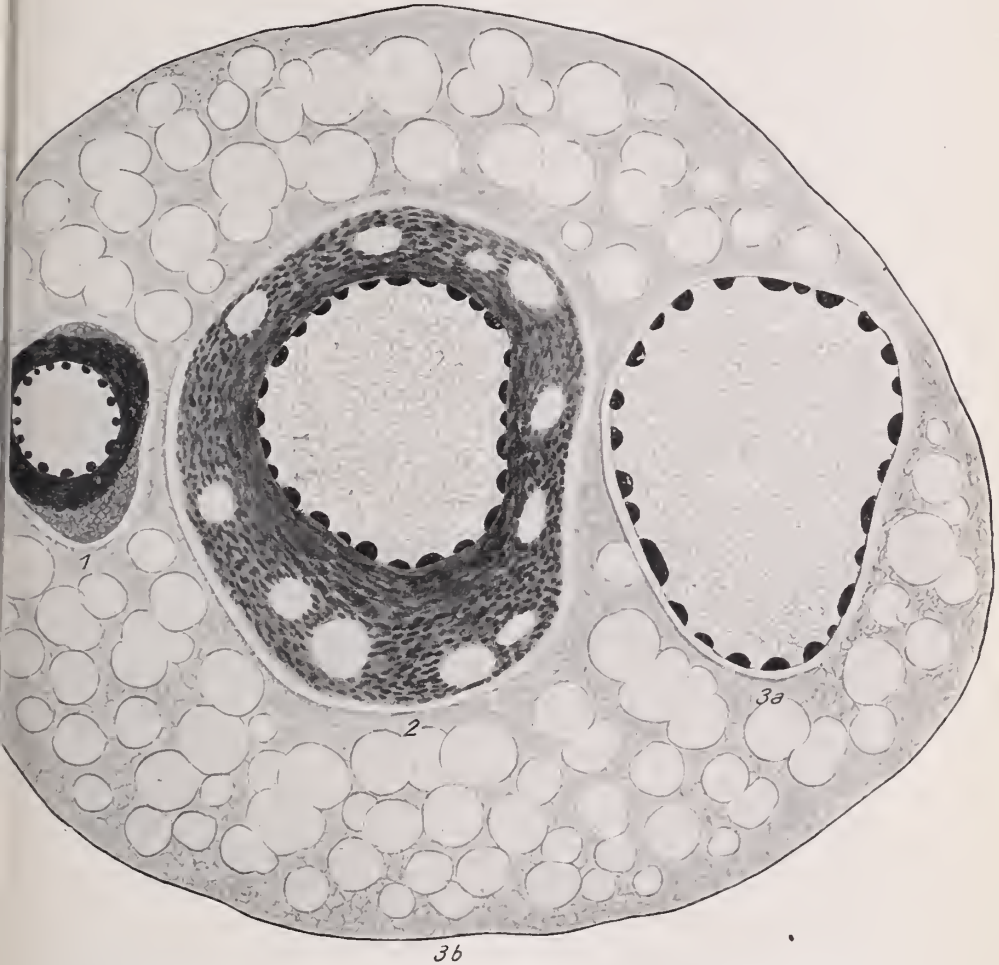
Ich selbst habe die starke basische Färbbarkeit des Eiplasmas gefunden bei: Medusen (*Eutimium*, *Haliclystus*, *Pelagia*); Würmern (*Thysanozoon*, *Sagitta*); Mollusken (*Patella*, *Doto coronata*); Crustaceen (*Balanus perforatus*); Fische (Stichling, Schlei, Weißfisch, Barsch und *Melamphaes*); Amphibien (Frosch, *Bombinator*, verschiedene *Triton*-Arten, *Salamandra atra* und *maculosa* sowie *Proteus*).

Ob all diese Formen außer diesem basophilen Ergastoplasma noch andre Ergastoplasmen besitzen, wurde nicht untersucht.

Von diesen von mir geprüften Objekten möchte ich nur noch eine derartige Form bildlich heranziehen, bei der man auch ohne Berechnung der Kernplasmarelation — schon auf den ersten Blick — sieht, daß der Eikern nur teilweise am Riesenwachstum des Eies beteiligt ist, und daß dem Ergastoplasma der Hauptanteil dabei zufällt. Ich wähle hierzu

das Ei der Schleie (*Tinca vulgaris*). Das Eiwachstum dieses Knochenfisches zerfällt wie das vieler andrer in zwei Perioden (Textfig. 8.):

Textfig. 8.



Drei Eierstockseier von *Tinca vulgaris*. (SCHLEIE.) *1.* Junge Oocyte mit basophilem Ergastoplasma. *2.* Mittelgroße Oocyte mit großen Massen dieses scholligen Ergastoplasmas. Auftreten der ersten definitiven Dotterkugeln. Der Kern ist bedeutend herangewachsen. *3a.* Nur wenig weiter gewachsener Kern des in *3b.* dargestellten riesigen Eies, dessen Ergastoplasma die Dotterbildung und damit das Riesenwachstum des Eies übernommen hat.

1. In die erste Periode (Fig. 1 u. 2) fällt einmal das riesige Wachstum des Kernes und seiner Komponenten. Der Kern nimmt proportional dem Plasma zu und ist infolgedessen wohl als nicht ganz unbeteiligt bei dem Plasmawachstum anzusehen.

Außerdem aber bildet sich im Plasma des Eies noch eine ganz intensiv basichromatische, schollige ergastoplasmatische Substanz, die in unsrer Textfigur Nr. 8, Fig. 1 u. 2, durch die dunklere Farbe angedeutet ist.

2. Während der Hauptwachstumsperiode des Eies vergrößert sich sein Kern selbst nur wenig. Fig. 3*a* zeigt den relativ kleinen zu dem riesigen Ei (Fig. 3*b*) gehörigen Kern. Das ganz enorme Eiwachstum ist also wahrscheinlich nicht dem Kern zuzuschreiben, sondern dem Ergastoplasma, das — von sich selbst aus — die Fähigkeit der riesigen Substanzzunahme zu besitzen scheint. In diesem Ergastoplasma entstehen auch die definitiven Dotterkugeln. Bei ihrer Bildung wird es verbraucht.

Demnach stellt unser Knochenfischei, das nur von einem ganz unbedeutenden Follikel, dem jedenfalls überhaupt keine nutritorischen Funktionen zuzusprechen sind, umgeben ist, einen kombinierten Fall von »nucleärem« und »ergastoplasmatischem« Eiwachstum dar.

Die erste Wachstumsperiode steht wohl im wesentlichen unter dem Einfluß des mächtig heranwachsenden Kernes. Die zweite deutoplasmatische Wachstumsphase wird bedingt durch das enorme, scheinbar autonome Heranwachsen des Ergastoplasmas und durch dessen Umsatz zu Dottermaterial.

In diese Gruppe der eventuell beim Eiwachstum aktiv mitwirkenden Ergastoplasmen sind vielleicht auch all die basophilen Körper (chromosomenartige Fäden, Stränge, Körnerhaufen, Mitochondrien usw.) zu rechnen, die in großer Anzahl beschrieben wurden von: Jordan (93), van Bambecke (97), Claypole (98), Schockärt (00), Bouin (00), Giardina (01), Tönniges (02), van der Stricht (02 u. 05), Henschen (03), Popoff (07), King (08), Lams (07 u. 10) u. a. m.

Bei einer Verallgemeinerung ist aber allergrößte Vorsicht geboten. Man kann die Gleichwertigkeit dieser Gebilde nur beurteilen bei eigner Kenntnis der betreffenden Objekte. Diese Gebilde können ja ganz belanglose Äußerungen eines speziellen Stoffwechsels sein, wie z. B. ähnliche Gebilde in *Proteus*-Eiern, die bei der Assimilation von Fetten im Plasma auftreten, oder die morphologisch gleichartigen Niederschlagsmembranen im *Piscicola*-Ei (Jörgensen 12). Deshalb möchte ich mich mit diesem kurzen, ganz unverbindlichen Hinweis begnügen.

Spätere Untersuchungen müssen zeigen, ob diese starke Basizität der verschiedenen Eiprotoplasmen immer auf denselben Körper zurückzuführen ist. Sie müssen ihn auch physiologisch eingrenzen, d. h. seinen Phosphorgehalt, seinen Gehalt an maskiertem Eisen, seine Tätigkeit als Oxydationscentrum usw. feststellen. Es ist auch darauf Wert zu legen, ob der in vielen Eiern beschriebene Dotterkern vielleicht eine lokale

Verdichtung dieses Körpers ist, oder ob der Dotterkern — wie ich das für *Proteus* beschrieben habe — ein Konglomerat der verschiedensten Substanzen darstellt.

Für uns ist hier nur interessant, daß dieser basophile, von uns beschriebene Körper aktiv in das Wachstum des Eies miteingreift und daher auch als ein das Riesenwachstum des Eies mitbedingender Faktor zu bezeichnen ist, und zwar nicht nur beim *Patella*-Ei, sondern bei allen oben erwähnten Formen.

Wir sehen also bereits hier die erste Komplikation. In solitär wachsenden Eiern bedingt nicht nur

1. der Kern durch seine Volumzunahme, sondern auch
2. das Ergastoplasma in seiner mannigfachen Erscheinungsform das Riesenwachstum des Eies.

Es ist aber nun noch folgende weitere Kombination denkbar und in der Tat auch verwirklicht.

Wir haben schon erwähnt, daß bei *Arion* die Kernplasmarelation während des ganzen Wachstums dauernd $^1/_{16}$ beträgt (nach Lams). Ohne Zweifel ist also der Kern, wie das auch Lams zugibt, beim Plasmawachstum beteiligt. Außerdem finden sich noch im Eiplasma Mitochondrien, denen unser Gewährsmann den Hauptanteil beim Eiwachstum zuspricht (diese sind vielleicht bezüglich ihrer Funktion dem basophilen Ergastoplasma vergleichbar). Als dritter beim Eiwachstum mitwirkender Faktor kommt aber noch eine Reihe von Nährzellen hinzu (siehe auch Obst u. a.), die aktiv ihr Nährmaterial in die Eizelle hineinsecernieren.

Wir haben also hier drei Faktoren, die gleichzeitig beim Riesenwachstum des Eies tätig sind. Wenn wir uns nun weiterhin fragen, in welcher Weise der Kern bei diesem Wachstum aktiviert ist, ob also seine Chromosome, oder ob vielleicht (wie das einige annehmen) seine nucleolären Substanzen, oder ob gar beide zusammen beim Eiwachstum wirksam sind und in welcher Weise, so werden wir gewahr, daß in der Tat das angezogene Problem ein komplexes Problem ist, wie wir es schon in der Einleitung andeuteten. Es ist nicht zu erklären durch diese oder jene theoretische Spekulation (etwa durch die Wirksamkeit eines Chromidialapparates usw.), sondern man muß ihm erst auf Grund sorgfältiger vergleichender Beobachtung näherkommen. Dann aber löst es sich in ein Zusammenspiel zahlreicher Faktoren auf, die teils im Kern (in der Oberflächenvergrößerung seiner Chromosome: in der enormen Ausbildung seines Nucleolarapparates?) teils wohl im Plasma des Eies (die verschiedenen Ergastoplasmaarten) teils aber überhaupt nicht im Ei selbst,

sondern in seinen Nähr- und Follikelzellen oder aber in den sogenannten »sekundären« Ernährungsbedingungen (gefressene Zellen, Darmsecretion usw.) gelegen sind.

III. Hauptteil.

Häufigkeitserscheinung.

Vorbemerkung.

Im Jahre 1890 fand M. Heidenhain[1]) bei Anwendung der Biondischen Färbung eine äußerst charakteristische Doppelfärbung der somatischen Kerne. Das Chromatingerüst nahm aus der betreffenden Lösung nur das Methylgrün an (= Basichromatin), während das »Kernsafteiweiß« sowie die Nucleolen sich in der roten Nuance des Säurefuchsins färbten (= Oxychromatin). »Durch diese Methode gelang es, zwei chemisch und biologisch differente Körper in völlig exakter Weise zu scheiden« (Heidenhain 07). In den verschiedenen Gewebearten ein und desselben Tieres (*Triton helveticus*) sind die beiden Chromatine in verschiedenem Mischungsverhältnis vorhanden. Von dem acidophilen Körper enthielten:

sehr viel: die Kerne der Becken und Bauchdrüsen,
eine mittlere Menge: die Kerne des Cloakenepithels u. a.,
wenig: die Kerne der quergestreiften und glatten Muskeln u. a.,
nichts: die Kerne bzw. Köpfe der Spermatozoen.

Finden sich also hier bei verschiedenen Gewebszellkernen verschiedene Massenverhältnisse der beiden Chromatinarten, so stellte sich bald darauf heraus (Heidenhain, Strasburger, Bühler), daß sogar innerhalb ein und desselben Kernes das Massenverhältnis beider Chromatine großen periodischen Schwankungen unterworfen ist. An der Hand der Fig. 1—7, Taf. IV (= Spermatogonienteilung von *Proteus anguineus*) wollen wir uns diese Gesetzmäßigkeit vergegenwärtigen.

Zur Darstellung des Basichromatins wurde Safranin, zu der des Oxychromatins das Lichtgrün verwendet. Die mit Safranin vorgefärbten Schnitte wurden mit alkoholischem Lichtgrün immer maximal differenziert. Zur Darstellung beider Chromatin-

---

[1]) Schon in den 80er Jahren haben Ogata, Lukjanow, Steinhaus und besonders Auerbach Doppelfärbungen im Kern erzielt. Diese führten aber nach Heidenhain (07) zu keinen Resultaten, weil die benutzten Farbstoffreihen nicht ihrer chemischen Qualität entsprechend kombiniert waren (saure + basische); sondern z. B. blaurote Gemische verwendet wurden, deren beide Komponenten die gleiche Reaktion aufwiesen. Über die Chromatophilie der Sexualkerne siehe auch A. Fischer 99, S. 145.

arten eignen sich alle färberisch distinkten Doppelfarben, deren eine Komponente sauer, deren andre basich ist; also auch DELAFIELD-Eosin, Methylgrün-Fuchsin (das wegen der basischen Reaktion des Methylgrüns und der sauren des Fuchsins die umgekehrte Farbreaktion gibt wie Safranin-Lichtgrün) u. a.

In der ruhenden Spermatogonie findet sich ein dichtes achromatisches [besser also wohl] oxychromatisches Gerüstwerk mit zahlreichen unregelmäßig gestalteten und angeordneten basichromatischen Brocken (Fig. 1, Taf. IV). Die in Ein- oder Zweizahl vorhandenen Nucleolen sind basichromatischer Natur. Während der Prophasen erfahren die basichromatischen Brocken ein beträchtliches Wachstum und schließen sich zu unregelmäßig konturierten Zügen zusammen (Fig. 2 Taf. IV), die sich schließlich zu dem mit basischen Farben intensiv tingierbaren Spirem auswachsen (Fig. 3, Taf. IV)[1]. Auf diesem Stadium, während der Mitose und Anaphase, ist die gesamte Kernsubstanz rein basichromatisch (Fig. 3—6, Taf. IV). Erst während der Auflösung der Chromosome im Tochterkern (Fig. 6 u. 7, Taf. IV) nimmt die Masse des Basichromatins wieder ab zugunsten des neu heranwachsenden Oxychromatins.

Auch nach M. HEIDENHAIN (07, S. 163) »schwindet das Oxychromatin während der Prophasen völlig. Der Wiederaufbau dieses Körpers in den Tochterkernen bezeugt unsrer Ansicht nach, daß die Oxychromiolen unter dem Einfluß der lebhaften Assimilation und Substanzvermehrung in den frisch gebildeten Tochterkernen entstehen«. — HEIDENHAIN ist der Ansicht, »daß die Kerne, welche der Regel nach nicht mehr in Mitose eintreten, häufig arm an Basichromatin, reich an Oxychromatin sind«.

Ich möchte das Wechselverhältnis beider Chromatinarten zu den chromosomalen Strukturen lieber wie folgt fassen: Für die funktionelle Struktur der Chromosome ist die oxychromatische Reaktion charakteristisch, für die Ruhestruktur des zu Chromosomen konzentrierten Chromatins die basichromatische Reaktion.

Zur Erklärung dieser cyklischen Reaktionsänderung nimmt HEIDENHAIN an, daß in wachsenden Kernen eine Anreicherung an P-haltigen Gruppen vor sich geht, die in das Basichromatin übergehen. »Demnach wäre der Gedanke naheliegend, daß die eiweißreichen Oxychromiolen in erster Linie diese vegetative Funktion erfüllen, P-reichere Gruppen durch Synthese zu erzeugen und abzuspalten, welche dann von den Basichromiolen assimiliert werden.« — »Die Basi- und Oxychromatine dürfen durchaus nicht als für die Dauer unveränderliche Körper aufgefaßt werden, sondern durch Aufnahme und Abgabe von Phosphor könnte eventuell auch die Färbbarkeit sich ändern.«

Hier ist auch zu verweisen auf die Versuche von MALFATTI und LILIENFELD, die auf die verschiedene Färbbarkeit der Albumine und Nucleinsäuren aufmerksam gemacht haben. Die Albumine nehmen

[1]) Der deutlich vorhandene Längsspalt ist sowohl in dieser wie in den folgenden Figuren bei der Reproduktion unberücksichtigt geblieben.

»saure«, die Nucleinsäuren »basische« Anilinfarben auf. Bei Herstellung verschiedener künstlicher Nucleine durch Zusammenbringen der beiden Komponenten in verschiedenen Mengenverhältnissen gelang es, alle Abstufungen der Farbennuancen an denselben zu erzeugen. Wenn man nach LILIENFELD die Reihe: Albumin, Nucleohiston, Nucleinston und Nucleinsäure mit einem Gemisch des sauren Fuchsins und basischen Methylgrüns behandelt, so erhält man die allmählichen Übergänge von Rot (Albumin) zu reinem Grün (Nucleinsäure). Bei Anwendung unsres basischen Safranin- sauren Lichtgrüngemisches würde man dementsprechend alle Stufen von Grün (Albumin) zu reinem Rot (Nucleinsäure) erhalten.

Ganz ähnliche Vorstellungen, die ebenfalls auf die Annahme LILIENFELDS (92) von der Zusammensetzung der Chromosome aus eiweißarmer Nucleinsäure zurückgehen, hat OLS (08) entwickelt: »Man könnte immerhin vermuten, daß während der Mitose der chemische Charakter des Chromatins sich ändert, entweder durch Abnahme des Albumins, wahrscheinlicher jedoch durch Angliederung von Nucleinsäure, so daß die Chromosome der Meta- und Anaphasen aus relativ eiweißarmem Nuclein bestehen würden. Die beobachtete Zunahme der chromatischen Substanz in den Prophasen könnte demnach auf die Zunahme der Nucleinsäure zurückgeführt werden« (S. 114).

Auch nach NEMEC (10) nimmt die Menge der Nucleinsäure während der Vorbereitung zur Teilung zu, nach erfolgter Teilung und auch in alternden Kernen ab.

Den experimentellen Beweis für die chemischen Differenzen des Chromatins während der verschiedenen Kernteilungsphasen hat in neuester Zeit NEMEC (10) in unzweideutiger Weise erbracht.

»Das Chromatin des ruhenden Kernes ist coagulierbar in heißem Wasser und ist unlöslich in demselben; wenn sich der Kern zur Teilung anschickt, wird das Chromatin immer schwieriger coaguliert und leichter aufgelöst, dicht vor der Metaphase erreicht es in dieser Beziehung den Höhepunkt. Jede Kernteilung ist also mit einer cyklischen Veränderung bestimmter Eigenschaften des Chromatins verbunden.« (Nucleoproteide, aus denen ja die Chromosome bestehen sollen, werden nun aber durch siedendes Wasser coaguliert. Diese Resultate von NEMEC sind aber nach OLS verständlich, da bekanntlich mehrere Nucleinsäuren im Wasser löslich sind.)

Auch der Frage, was den Abbau des Chromatins nach der Teilung bewirkt, ist man schon näher getreten. OLS kommt zum Resultat, daß wachstums- und teilungsfähige Zellen ein chromatinlösendes Enzym (Nuclease) enthalten, welches (bei Zusatz von Toluol, Chloroform, Karbolsäure, Kochsalz usw.) die angefangenen Mitosen löst. Am schnellsten werden die Meta-, Ana- und Telophasen, langsamer die Prophasen und sehr langsam die ruhenden Kerne angegriffen. Kernmembran und Nucleolus des ruhenden Kernes bleiben gut erhalten. Die Nucleine werden wahrscheinlich nicht nur gelöst, sondern auch tief gespalten.

Aus all diesen Befunden ersehen wir jedenfalls die großen cyklischen Veränderungen des Chromatins während der Mitose: Das Chromatin des »Ruhe«kernes ist stark oxychromatisch (P.-arm), das Chromatin der Mitose rein basichromatisch (P.-reich). Der Kern des wachsenden Eies

ist nun ein sehr tätiger, stark funktionierender Kern. Da nun für die funktionelle Struktur der Chromosome (im »Ruhe«kern) die oxychromatische Reaktion charakteristisch ist (siehe oben), so dürfen wir erwarten, daß der Eikern große Mengen von chromosomalem Oxychromatin enthält. Diese Vermutung wird auf das beste bestätigt. Denn, wie uns die

III. Häufigkeitserscheinung

zeigt, sind während des Eiwachstums die Chromosome des Eikernes stets — rein oxychromatisch, die nucleolären Substanzen dagegen stets — rein basischromatisch.

Da nach dieser Gesetzmäßigkeit

1. die oxychromatischen Chromosome während des Eiwachstums gerade die umgekehrte Reaktion zeigen wie die basischromatischen Chromosome während der Zellteilung,

2. die basichromatischen Nucleolen während des Eiwachstums gerade die umgekehrte Reaktion aufweisen wie die echten Nucleolen des »Ruhe«kernes,

so sei es uns gestattet, diese Gesetzmäßigkeit der Kürze halber zu bezeichnen als das Gesetz der umgekehrten Reaktion der Kernkomponenten während des Eiwachstums.

Diese Reaktionsumkehr ist nicht allein eine färberische, sondern auch eine chemische, wie die Verdauungsversuche beweisen. Während die basichromatischen Chromosome der Mitose in Pepsinsalzsäure unverdaulich sind, verdauen sich die oxychromatischen Chromosome im wachsenden Eikern nach ungefähr 10 Minuten. Die Nucleolen sind je nach ihrem Alter und auch jeweils nach den verschiedenen Objekten verschieden unverdaulich oder verdaulich.

Die Chromosome der sich teilenden Eizellen (Oogonien) sind, wie die aller Zellen in Mitose rein basichromatisch, die Chromosome der wachsenden Oocyte sind rein oxychromatisch; — wo liegt nun der Zeitpunkt dieses totalen Reaktionsumschwunges?

Wie bei der Mitose, so sind auch während des Bukettstadiums die Chromosome der jungen Oocyte rein basichromatisch (Fig. 8, Taf. IV, *Triton*-Ovar); ein weiterer Beweis dafür, daß das Bukett als Teilungsversuch anzusehen ist. Während der diplotenen und dictyenen Stadien büßen die Chromosome neben ihrer polaren Orientierung auch diese ihre Färbbarkeit ein (Fig. 9, Taf. IV). In dem Maße, wie sie sich im Kernraum zerstreuen, beginnen sie, sich oxychromatisch zu färben, bis sie schließlich nur ganz wenige (Fig. 10, Taf. IV) und endlich überhaupt keine basischen Chromiolen mehr aufweisen (siehe Fig. 34—37, Taf. IV).

Während dieser Reaktionsänderung der Chromosome haben sich (bei *Triton*) zahlreiche Nucleolen an der Kernperipherie neu gebildet und sind bedeutend herangewachsen (siehe auch bei *Proteus* [nach Jörgensen 10 und Textfig. Nr. 9]), sowie all die andern auf Taf. IV—VII abgebildeten Objekte). Alle diese Nucleolen bzw. nucleolären Substanzen

Textfig. 9.

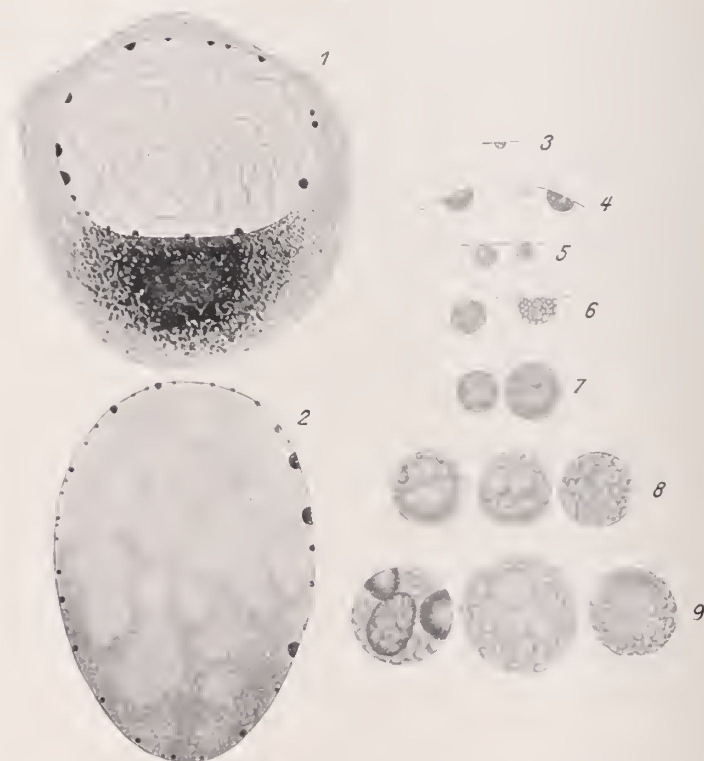


Fig. *1* und *2*. Erstes Auftreten der Randnucleolen in der jungen *Proteus*-Ovocyte. Fig. *3—9*. Die von den jüngsten Stadien an vorhandene, mit dem Alter der Randnucleolen zunehmende Vacuolisation.

zeigen die reine basichromatische Reaktion, sind also als »Chromatinnucleolen« anzusprechen.

Auch diese Reaktionsänderung der Chromosome nach dem Bukettstadium ist auf die eben besprochene chemische Änderung[1]) ihrer Substanz zurückzuführen, wie sich gleichfalls aus dem Verhalten gegen-

[1]) Häcker (1907, S. 25) läßt es dahingestellt, »ob die Chromatinkörnchen natürliche, als Zwischenprodukte des Stoffwechsels anzusehende Nucleinconcremente sind, oder ob die stärkere Färbung der chromatischen Teile, insbesondere der fertigen Chro-

über Pepsinsalzsäure ersehen läßt. Während des Buketts sind die Chromosome in Pepsinsalzsäure noch unverdaulich, kurz nach dem Bukettstadium dagegen leicht lösbar.

Wir können uns vorstellen, daß — wie nach jeder Mitose — so auch nach dem Bukettstadium das von OLS gefundene chromatinlösende Ferment (Nuclease) zur Wirksamkeit gelangt und die basischen Chromatine abbaut. Die hierbei vor sich gehende tiefe Spaltung der Nucleine beweist das Verdauungsexperiment. Der Abbau des Buketts geht schnell vor sich, da die Meta-, Ana- und Telophasen am schnellsten angegriffen werden.

Dieses Verhalten der Chromosome während des Eiwachstums wirft nun auch ein klärendes Licht auf theoretische Ansichten, die von verschiedener Seite ausgesprochen sind, auf die sogenannte »Achromatinhypothese«, die auf zoologischer Seite von HÄCKER (1904, 07, 11) auf botanischer von STRASBURGER (07) aufgestellt wurde.

HÄCKER (11, S. 44) schreibt in seinem neuen Vererbungsbuche: »Im Gegensatz zu der älteren Auffassung (Chromatinerhaltungshypothese) geht eine andre Annahme (Achromatinerhaltungshypothese oder kurz Achromatinhypothese) unter andern von der Tatsache aus, daß in vielen ruhenden Kernen — außer einem oder mehreren Nucleolen — überhaupt keinerlei färbbare Substanz wahrzunehmen ist, und verlegt den Schwerpunkt von der färbungsanalytisch oder mikrochemisch nicht immer scharf faßbaren Chromatinsubstanz auf das alveolär strukturierte Grundplasma des Kernes, welches nach obigem im ganzen den Kernsaft und das Kerngerüst, also die Linin- oder Achromatinsubstanzen der früheren Autoren in sich begreift. Die Chromosome entstehen danach nicht durch Vermehrung und Zusammenscharung der Chromatinkörnchen, sondern als lokale (cirkumskripte), stark färbbare (vorwiegend basophile) Verdichtungen des alveolären Karyoplasmas selber.«

Auch STRASBURGER (07, S. 173) kommt zu einem ähnlichen Resultat, bei Betrachtung der *Marsilia*-Kerne: »das bestärkt mich immer mehr in der Vorstellung, daß jene Substanz, die man als Chromatin in den Kernen bezeichnet hat, und aus der die Chromosome ihren Namen schöpfen, nicht die Erbsubstanz sein kann. — Nach den Erbeinheiten ist in dem Gerüstwerk des Kernes zu suchen. Sie zeichnen sich nicht, wie *Marsilia* lehrt, durch besondere Färbbarkeit aus.«

Beide Autoren verlegen also die theoretisch wichtigen Erbeinheiten (während gewisser Phasen) in die achromatische (besser oxychromatische) alveolär strukturierte Kerngrundsubstanz.

Unser Gesetz von der Reaktionsumkehr der Chromosome läßt diese Hypothese entbehrlich erscheinen.

---

mosome, wie GRÉGOIRE und WYGAERTS (1903) annehmen, überhaupt nur eine Folge des dichteren Wabengefüges ist, oder ob es sich schließlich bei den Chromatinkörnchen nur um künstliche Fällungen der Alveolarflüssigkeit handelt.«

Beide Autoren haben nicht genügend berücksichtigt, daß die Chromosome im Ruhekern und besonders im Keimbläschen ihre basische Färbbarkeit einbüßen und die oxychromatische Reaktion annehmen, die in gleicher Weise auch die Kerngrundsubstanz besitzt.

Daher ist ihnen eine Verwechslung der oxychromatischen Chromosomenbestandteile mit dem oxychromatischen Kernreticulum untergelaufen.

Wenn auch in vielen Fällen die Chromosome während des Eiwachstums sich (für unsre optischen Mittel) scheinbar maximal auflösen können, so gibt es doch ebensoviele Fälle, wo sie sicher erhalten bleiben (Teleostier, *Bufo*, *Proteus*, Fig. 27—29, Taf. II und z. B. auch *Sagitta*, Fig. 34—39, Taf. IV).

Ihre schwierige Darstellbarkeit bei etwas größerer Auflösung beruht eben auf ihrem färberisch gleichen Verhalten mit der Kerngrundsubstanz.

Vorausgesetzt, daß also die Chromosome überhaupt die Träger der Erbeinheiten sind, so sind sie es auch während des Eiwachstums, und wir haben es nicht nötig, die Kerngrundsubstanz als Ersatzstruktur für die aufgelösten Chromosome anzusehen. Ihre basichromatischen Bestandteile haben die Chromosome zwar eingebüßt, ihre oxychromatischen Bestandteile sind erhalten geblieben.

Nur in den Fällen, wo die Chromosome sich maximal aufgelöst haben, könnte die Häcker-Strasburgersche Hypothese von dem Vorhandensein der Erbeinheiten in dem alveolärstrukturierten Grundplasma des Kernes in Frage kommen. Es ist aber nach Analogieschluß anzunehmen, daß auch hier ein Teil der Chromosome unabhängig von der Kerngrundsubstanz erhalten bleibt, daß er uns aber bei seiner gleichartigen färberischen Reaktion mit dieser entgeht.

Den gleichen Einwand kann man Vejdovsky (07) machen, der »bei der Rekonstruktion des Kernes aus den Chromosomen feststellen konnte, daß das Euchylem aus dem mütterlichen Linin und das neue Gerüstwerk aus dem Chromatin zustande kommt«. Während sich das Chromatin für die neue Chromosomengeneration aus den vorhandenen Substanzanlagen, d. h. durch fortschreitende Assimilation des Enchylems und Anlagerung auf das bestehende Liningerüst bildet.

Diese komplizierten, mehrfachen Metamorphosen, die — wie die Verdauungsexperimente lehren — auch chemische Änderungen der chromosomalen Substanzen bedingen, können schließlich zur Erklärung des vollständigen Chromosomenschwundes herangezogen werden (ob mit Recht, ist eine andre Frage, die morphologisch jedenfalls nicht zu lösen ist).

Für die oben zitierten Objekte mit dauernd vorhandenen oxychromatischen Chromosomen ist diese Metamorphose Chromatin⟶Linin ⟶Enchylem und umgekehrt entbehrlich.

Der Achromatinhypothese haben sich bereits zahlreiche Autoren angeschlossen. Nachdem schon Boveri (04) bemerkt hat, daß es für die Frage nach der Individualität der Chromosome ganz gleichgültig ist, »wenn das, was durch den ruhenden Kern hindurch die Kontinuität der Chromosome vermittelt, überhaupt gar nicht ihr färbbarer Bestandteil wäre«, haben zahlreiche Forscher auf das Achromatin als Vererbungsträger hingewiesen, so Maréchal (1904 u. 06); Farmer u. Moore (1905); Montgomery (1906), der Linin und Chromatin zusammen für die Vererbungssubstanzen hält; Marcus (1906); Walker (1907); Jörgensen (1908); Reuter (1910) u. a.

Fast in allen Ovogenesen wird ein gewisser färberischer Gegensatz zwischen der Nucleolar- und der chromosomalen Substanz angegeben. Ich erwähne hier aus dem Gedächtnis — ohne irgendeine Vollständigkeit anzustreben — nur Maas (99), Bouin (01), Giardina (01), Schmidt (04), Mc Gill (06), Popoff (07), King (08), Debaisieux (09), Buchner (09).

Aber, was all diese Autoren nicht erkannt haben, war

1. die höchst auffällige Tatsache, daß die Chromosome oxy-, die Nucleolen basichromatisch reagieren. Also gerade umgekehrt wie normal.

In den meisten Fällen wurde eben nur Wert gelegt auf eine färberisch distinkte Darstellung, nicht etwa auf eine saure-basische Farbkombination, die gleichfalls färberisch distinkt war.

2. Die ganz allgemeine Verbreitung und Gesetzmäßigkeit dieser Erscheinung.

Ich habe dieses Gesetz der umgekehrten Reaktionsweise der Kernkomponenten im wachsenden Ei:

der oxychromatischen Reaktion der Chromosome,
der basichromatischen der Nucleolarsubstanzen,

an einer sehr großen Anzahl von Formen geprüft. Ich verweise hier nur kurz auf die Taf. IV—VII, deren einzelne Serien später besprochen werden sollen. Die Chromosome sind nach dem Bukettstadium grün, die Nucleolarsubstanz immer rot gefärbt (Safranin-lichtgrün).

1. Mit diesem Gesetz der umgekehrten Reaktion der Kernbestandteile ist uns ein Mittel in die Hand gegeben, für die Dauer des Eiwachstums beide Komponenten, die ja oft miteinander verquickt worden sind, scharf auseinander zu halten. Diese scharfe Trennung ist eine weitere

Handhabe zum Nachweis der theoretisch wichtigen Kontinuität der Chromosome von der letzten Oogonien- bis zur Reifeteilung; ein Nachweis, der ja von größter Wichtigkeit ist für die Individualitätstheorie der Chromosome.

Diese wurde — wie bekannt — erschüttert durch die beiden folgenden Serien von Arbeiten.

Für Eier mit einem Nucleolus haben Wilson (01), Hartmann (02), Goldschmidt (02), Günther (04) u. a. angegeben, daß im Kerngerüst keine Chromosome vorhanden sind, daß diese vielmehr kurz vor der Reifeteilung aus dem Nucleolus hervorsprossen (Günther wurde der Individualitätstheorie dadurch gerecht, daß er die vorher im Kernreticulum vorhandenen Chromosome zuvor in den Nucleolus hineinwandern ließ). Die gleiche Ansicht hatten schon früher für polynucleäre Amphibieneier Carnoy und Lebrun, Fick u. a. geäußert. Nach ihnen sollten die Oogonienchromosome vollständig verschwinden, mehrere Generationen von Nucleolen auftreten, aus deren letzter dann die Reifechromosome als völlig neue Individuen herauskommen sollten. Alle neueren Untersucher, wie Maréchal (06), Levi (06), King (08), Jörgensen (10) u. a. haben aber die offensichtliche Unrichtigkeit dieser Anschauung nachgewiesen und die alten Angaben von Rückert (92) und Born (94) bezüglich dieser Frage bestätigt. Für die mononucleären Echinodermen-Eier haben Jordan (07 u. 08) und Buchner (11) neben dem Nucleolus dauernd die Chromosomentetraden während des ganzen Eiwachstums nachgewiesen.

Mit Hilfe unsrer neuen Erkenntnis von der umgekehrten Chromatizität läßt sich nun in jedem, auch morphologisch schwierigen Falle (siehe später) auf das deutlichste nachweisen, daß eine Auflösung der basischen Nucleolarsubstanz in oxychromatische Chromosomensubstanz während des Eiwachstums niemals stattfindet. Als Beispiele für morphologisch schwierige Fälle seien hier kurz erwähnt: das Ei der Meduse *Obelia* (Fig. 15—28, Taf IV). In seinem Kern wächst der vorhandene Nucleolus in fädige Stränge aus, die jeder auf den ersten Blick für Chromosome halten würde, so daß er sagen könnte: Bei *Obelia* liefert der Nucleolus die Chromosome. Diese Annahme ist aber nach unsrer entwicklungsgeschichtlichen Serie (Fig. 15—28, Taf. IV) ganz ausgeschlossen. Außerdem sind aber immer neben der fädigen basichromatischen Nucleolarsubstanz noch die fädigen oxychromatischen Chromosome vorhanden[1]) (Fig. 19—28, Taf. IV). Mit Hilfe unsrer Reaktion

[1]) Wie das auch Trinci (06), der einen einzigen Kern einer andern *Obelia* abgebildet hat, beschreibt.

läßt sich die strenge morphologische Unabhängigkeit beider Substanzen voneinander auf das deutlichste zeigen.

Ein ähnlicher, morphologisch schwieriger Fall ist das Keimbläschen des Tiefseefisches *Melamphaës* (Fig. 105—125, Taf. VII). Auch hier lösen sich die Randnucleolen zu basichromatischen strangförmigen Gebilden auf, die jeder für Chromosome erklären würde, wenn ihre Entwicklungsgeschichte nicht dagegen spräche und nicht außerdem noch die oxychromatischen Lampenbürstenchromosome vorhanden wären. Derartige strangförmige Oberflächenvergrößerungen der Nucleolen — wie sie ja auch von Maréchal (06) und King (08) beschrieben wurden — haben ohne Zweifel Carnoy und Lebrun, Fick, Lubosch u. a. verleitet, eine Auflösung der Nucleolen in Chromosome anzunehmen. Dieser irrtümlichen Auslegung macht die Erkenntnis der umgekehrten Reaktion der Kernkomponenten im wachsenden Eikern endgültig ein Ende.

2. Es sind nun auch Eier beschrieben worden, in deren Kernen eine nucleäre Substanz in gewöhnlichem Sinne nicht vorhanden ist. So soll nach Giardina (01) im Keimbläschen des wachsenden *Dytiscus*-Eies keine Nucleolarsubstanz vorkommen (Fig. 90, Taf. VI). Erst bei weiterem Wachstum treten dann bei der auch von Giardina angewandten Safranin-Lichtgrünmethode basichromatische Granula auf (Fig. 91, Taf. VI), die aber nicht als nucleoläre Substanzen gedeutet werden.

Diese sind erst durch die ergänzenden Untersuchungen von Debaisieux (09) nachgewiesen worden. Debaisieux hat sie in Zusammenhang gebracht mit dem sogenannten Giardinaschen Ring, der ja schon lange die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gezogen hat.

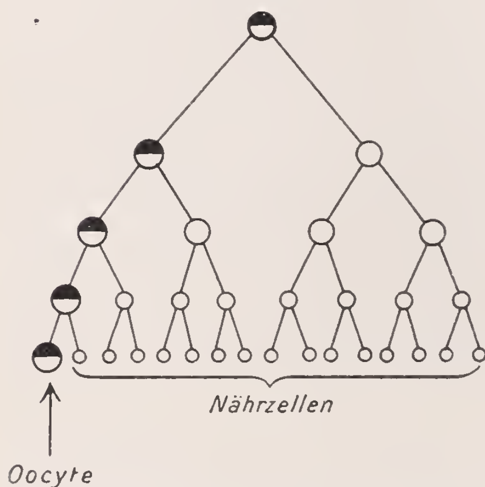
Zur Illustration der folgenden Erörterungen habe ich einige der Giardinaschen Figuren auf Taf. VI reproduziert (Fig. 81—91). Wenn ich nicht die in vieler Hinsicht klareren Bilder von Debaisieux gewählt habe, die — im Gegensatz zu Giardina — auch eine lückenlose Seriierung darbieten, so geschah es deswegen, weil auf Giardinas Tafeln die charakteristischen Farbdifferenzen zum Ausdruck gebracht sind. Ist doch nach unsrer Auffassung gerade die charakteristische basische Reaktion des Giardinaschen Ringes und seiner Derivate eine weitere Stütze der Ansicht von Debaisieux von der nucleolären Natur dieses Körpers.

Schon in den Oogonienteilungen fand Debaisieux Körper, die an Nucleolen erinnerten. Während der Vermehrungsteilungen wurden sie auf die Tochteroogonien verteilt. Ihr weiteres Schicksal wurde nicht verfolgt.

Vor der letzten Differentialmitose entsteht in den Ovogonien (neben

den 40 Chromosomen) aus einer achromatischen Masse durch Einlagerung von Chromatin (Fig. 81 u. 82, Taf. VI) ein chromatischer Körper, der während der folgenden Mitosen sich wie ein Ring um die Äquatorialplatte legt und immer nur (ungeteilt) in die eine Oogonie gelangt, während die Schwesterzellen nur die Chromosome erhalten (Fig. 83—85). So kommen schließlich durch viermalige Teilung nach dem Giardinaschen Schema (Textfig. 10) eine junge Oocyte mit dem Körper und 15 Schwesterzellen zustande (Fig. 86). Letztere werden als abortive Eizellen die Nährzellen der jungen Oocyte. Das weitere Schicksal dieses Körpers haben weder Giardina selbst noch Günthert (10) lösen können. Giardina berichtet, daß der fragliche Körper seine Basichromatizität einbüßt (Fig. 87—89) und sich im Kernreticulum auflöst (Fig. 89 u. 90). Unabhängig von ihm werden dann späterhin im Kern basichromatische Granula de novo »secerniert«. Debaisieux fand dagegen, daß sich der betreffende sogenannte Giardinasche Körper zu Beginn des Eiwachstums in zahlreiche »corps nucléolaires« auflöst, die identisch sind mit den von Giardina beschriebenen basichromatischen Granula (Fig. 91). Nach Debaisieuxs Befunden ist also der Giardinasche Körper die Muttersubstanz der zahlreichen, später auftretenden Einucleolen, die den fehlenden typischen Einucleolus zu ersetzen haben. Diese Vermutung Debaisieuxs, der sich unterdessen auch Buchner (10) angeschlossen hat, erfährt nun durch unsre vergleichenden Betrachtungen eine weitere Stütze. Wir sahen, daß sich die Nucleolarsubstanz des wachsenden Eies immer stark basisch färbt im Gegensatz zum oxychromatischen Chromosomenreticulum. Auch der Giradinasche Ring (Fig. 82—86) und seine Derivate (Fig. 91) fügen sich diesem Gesetz der umgekehrten Reaktion der Kernkomponenten und sind deshalb als Nucleolarsubstanzen des Eies zu betrachten.

Textfig. 10.



Schema der Bildung der Oocyten und Nährzellen bei *Dytiscus* (nach Giardina 01).

Diese Auffassung widerspricht den bisherigen Deutungen, die dieser Körper erfahren hat.

1. Boveri (04) vergleicht seine Bildung, an der nach seiner Meinung alle 40 Chromosome beteiligt sind, mit dem Diminutionsvorgang bei *Ascaris*. Die Nährzellen, die ja auch »somatische« Zellen sind, bekommen nicht alle Erbeinheiten, nicht das ganze Keimplasma, sondern erhalten nur »diminuierte« Kerne. Die Eizelle selbst bekommt aber — mit dem Giardinaschen Körper — alle Erbqualitäten. — Demgegenüber möchte ich betonen, daß ich den fraglichen Körper nicht für einen auf die Geschlechtszellen beschränkten Komplex von Erbqualitäten halte, sondern daß er — nach meiner Meinung — nur somatische Qualitäten überträgt, wie ja alle Nucleolarsubstanz überhaupt nur mit dem individuellen Leben der Zelle etwas zu tun hat.

2. Nach der Auffassung Goldschmidts (04) stellt der Ring den »somatischen« Kern dar. Beide Teilzellen erhalten jede ihren propagatorischen Kernteil, aber nur die Eizelle erhält außerdem noch den »somatischen« Kern. »Die Nährzellen haben ihn nicht nötig, weil sie keine somatischen, trophischen Funktionen zu erfüllen haben«. Hierzu habe ich zu bemerken:

a) Der Begriff »somatischer Kern« oder »Trophochromatin« ist uns zu unbestimmt, zu wenig präzise. Schließlich sind alle Strukturen innerhalb eines »Ruhekernes«, wie es das wachsende Keimbläschen ist, »trophisch«; sowohl die oxychromatischen Chromosome [deren Reaktion ja besonders charakteristisch ist für ihre trophische Funktionsperiode und die ja auch funktionelle Oberflächenvergrößerungen aufweisen können, wie z. B. die Lampenbürsten] wie die enorm vermehrte basische Nucleolarsubstanz sind trophisch. Eine Trennung von propagatorischem und somatischem Kern ist bei *Dytiscus* nach meiner Ansicht nicht eingetreten.

b) Weiterhin ist es aber noch ganz unsicher, ob das durch den Giardinaschen Ring herbeigeführte Plus an Chromatinsubstanz die Funktion eines somatischen Kernes hat, der ja nach Goldschmidt das Riesenwachstum des Eies bedingen soll.

Wenn der Giardinasche Ring wirklich die Funktion der Nucleolarsubstanz übernommen hat, so hat er sicherlich nichts mit dem Eiwachstum als solchem zu tun (wie wir dies ja für die Nucleolarsubstanz überhaupt noch im einzelnen nachweisen werden, Kapitel IV).

Das Wachstum des *Dytiscus*-Eies besorgen die Follikel- und besonders die Nährzellen mit ihren besonders bei *Dytiscus* enorm ausgebildeten Nährsträngen.

Deshalb können wir auch dem Vergleich des *Dytiscus*-Ringes mit dem Nebenkern (Spermatocyten), Chromidien und Dotterkern (Eizellen), mit dem Ergastoplasma (der Drüsenzellen) und dem Makronucleolus der Infusorien nicht zustimmen, sondern halten ihn — auf Grund seiner charakteristischen Reaktion — für eine specifische Nucleolarsubstanz, die wie alle nucleoläre Substanz im Leben des Kernes unentbehrlich ist. Für das Riesenwachstum des Eies ist er (als somatischer Kern) nicht verantwortlich zu machen.

Einen ähnlichen Körper glaubt Buchner (09) in seinem accessorischen Körper im *Gryllus*-Ei (Fig. 71—78, Taf. VI) gefunden zu haben. Bei *Sagitta* schien es diesem Autor nicht ausgeschlossen, daß die Nucleolen ersetzt werden durch Chromidien. die von außen sich dem Kern anlegen und dort die Rolle der Nucleolarsubstanz übernehmen (Fig. 29

bis 39. Taf. IV). Ich komme auf diese beiden Fälle im folgenden speziellen Teil noch ausführlicher zurück. In allen diesen Fällen weist auch die »Ersatz«-Nucleolarsubstanz (nucleoloide Substanz Buchners 10) die charakteristische basische Reaktion auf. Unsre Erkenntnis kann daher auch dazu dienen, in komplizierten Fällen, in denen eine Nucleolar- oder Ersatz-Nucleolarsubstanz ohne weiteres nicht auffindbar ist, diese deutlich zu machen.

Bevor wir uns nun mit der vergleichenden Morphologie der Nucleolarsubstanz im wachsenden Eikern bekannt machen, ist es angezeigt, die Resultate der Hauptarbeiten über die Einucleolen zu besprechen. Dann werden wir eine größere Anzahl von Fällen beschreiben, in denen der Nucleolarapparat in dieser oder jener Weise bemerkenswert entwickelt ist. Zum Schluß wollen wir auf Grund unsrer eignen Untersuchungen die wichtigsten theoretischen Gesichtspunkte herausarbeiten.

IV. Hauptteil.

1. Eigene Beobachtungen über die Nucleolarsubstanz des wachsenden Eies.

Um die Konvergenzerscheinungen in den cytologischen Vorgängen beim Eiwachstum besonders zu beleuchten, haben wir uns bemüht, aus jedem Tierstamm einen oder mehrere Vertreter herauszugreifen, die für die vergleichende Beurteilung der Rolle des Nucleolarapparates im wachsenden Ei von Bedeutung sind.

1. Cölenteraten.

Die Medusen weisen in weitaus den meisten Fällen, die mir zu Gesicht gekommen sind, einen höchst einfachen Bau ihres Eikernes auf. Meist ist nur ein basischer Nucleolus vorhanden (Fig. 11—14, Taf. IV, Leptomeduse *Eutimium*). Die Chromosome sind während des ganzen Eiwachstums neben dem Nucleolus vorhanden. Eine centrale Verklumpung dieser zu einem zweiten Nucleolus und Abströmungsfortsätze von diesem zur Kernperipherie, auf denen nach Schaxel (10) Chromatin vom Kern ins Plasma übertreten soll, existieren hier nicht. Wir halten die diesbezüglichen Angaben Schaxels, sowohl für *Pelagia* — welches Objekt wir persönlich kennen — wie auch für die übrigen von ihm untersuchten Objekte (Echinodermen) für nicht den Tatsachen entsprechend. Die Deutungen dieses Autors sind wohl zum Teil der suggestiven Gewalt der »Lehre vom Chromidialapparat« zuzuschreiben.

Neben diesen Formen mit einem Nucleolus fiel uns unter den Campanulario-Leptomedusen eine Form auf, *Obelia*, die äußerst charakteristische Umbildungen ihrer Nucleolarsubstanz zeigte[1]) (Fig. 15—28, Taf. IV). In den jüngsten Oocyten findet sich ein scheinbar kompakter Nucleolus (Fig. 15, Taf. IV). Dieser wird vacuolisiert (Fig. 16) und löst sich zu einem unregelmäßigen Band auf (Fig. 17 u. 18), das beträchtlich heranwächst und sich weiter ausbreitet. Dieses anfangs einheitliche Band löst sich in mehrere isolierte Bruchstücke auf (Fig. 21 u. 22) und bildet Ringe, Achter- und u-Figuren, die diese Gebilde — wie erwähnt — auf den ersten Blick als Chromosome erscheinen ließen, wenn nicht ihre Entstehung dem widerspräche und wenn nicht die oxychromatischen Chromosome (mit Lichtgrün gefärbt) während des ganzen Eiwachstums als feine Fäden neben den nucleären Strängen sichtbar wären (Fig. 19—28, Taf. IV).

Die fädig ausgezogene Nucleolarsubstanz nimmt auf der Höhe ihrer Ausbildung beträchtliche Dimensionen an (Fig. 23 u. 24). Gegen Ende des Eiwachstums konzentriert sie sich zu kompakteren Ringen (Fig. 25 u. 26), die achterförmig sind, einfache und Doppelringe bilden und zum Teil ganz und gar dem rosenkranzförmigen Makronucleus von *Stentor* gleichen können (Fig. 27). Indem die einzelnen Teile dieser Nucleolenkomplexe noch mehr verschmelzen, bilden sich schließlich zahlreiche, einzelne, runde, stark vacuolisierte typische Nucleolen aus (Fig. 28). Daneben sind schon früher und auch jetzt noch zahlreichere kleinere Nucleolen herangesproßt (oder abgesplittert?)

Ohne Zweifel hat diese bandartige Vergrößerung der Nucleolarsubstanz den Wert einer Oberflächenvergrößerung dieser für das Eiwachstum wichtigen basichromatischen Substanz.

Fragen wir uns nun, warum hat die eine Leptomeduse, z. B. *Eutimium* (Fig. 11—14) nur einen Nucleolus, die andre Leptomeduse *Obelia* aber diesen komplizierten Nucleolarapparat, so werden wir darauf am besten die Antwort finden, wenn wir beiderlei Eigrößen vergleichend ins Auge fassen. Dies ist geschehen in unsrer Textfig. 11, auf der (bei gleicher Vergrößerung) die Kern- und Zellumrisse sowohl des mononucleolären *Eutimium*- wie des polynucleolären *Obelia*-Eies eingetragen sind.

Nach der Häckerschen (1893 u. 99) Ansicht soll ja der polynucleoläre Zustand eines Eikernes mit dem Dotterreichtum des betreffenden

[1]) Diese interessanten Verhältnisse waren bisher ganz unbekannt. Nur Trinci (06) gibt ein Bild von einer *Obelia lucifera*, das aber in seiner Unvollkommenheit gar keinen Begriff gibt von den ganz bizarren Nucleolenauflösungsfiguren.

Eies zusammenhängen; soll sich doch bei den dotterreichen Wirbeltiereiern der multinucleoläre Zustand des »Vertebratentypus« (Häcker) finden. Hier aber findet sich schon bei den Medusen der »Vertebratentypus«. Und diese Meduse, die ihn aufweist, die Meduse *Obelia*, hat annähernd genau den gleichen Eiumfang, genau die gleichen Dotter-

Textfig. 11.

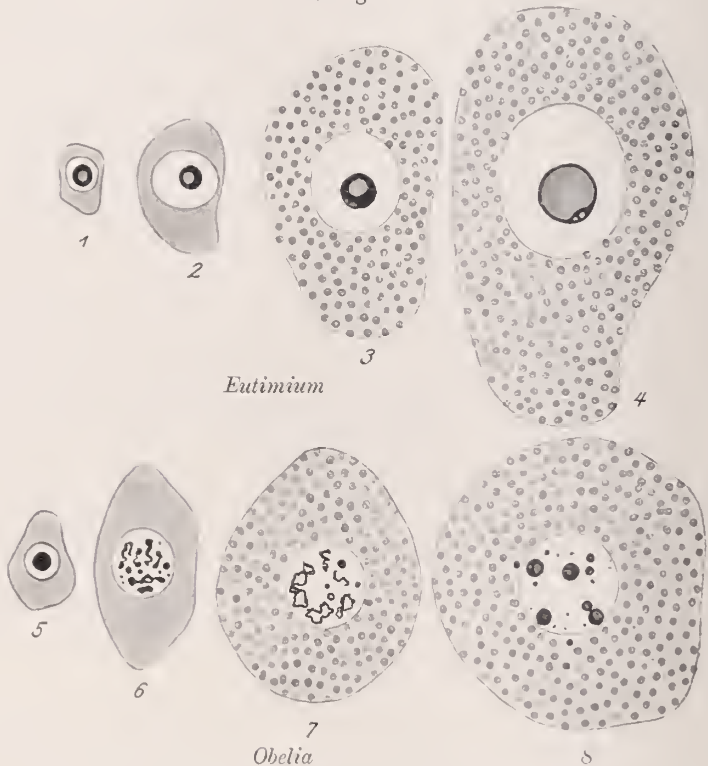


Fig. 1—4. Mononucleoläre Eier der Leptomeduse *Eutimium*. Fig. 5—8. Polynucleoläre Eier der Leptomeduse *Obelia*. Beide Serien bei der gleichen Vergr. von 340 ×.

massen wie die Meduse *Eutimium*, die bei — eher noch etwas größeren Kern- und Zellabmessungen — nur einen einzigen Nucleolus besitzt! Daher können wir wohl annehmen, daß — bei den Medusen wenigstens — der Reichtum an Nucleolarsubstanz nicht mit dem Dotterreichtum in Zusammenhang zu bringen ist.

Aber noch auf einen andern Punkt möchte ich die Aufmerksamkeit lenken. Beide angezogene Medusen sind nahe Verwandte, gehören zu den Leptomedusen. Schon hier fällt uns also die ganz außerordent-

liche Specifizität der Nucleolarsubstanz ins Auge. Wie hier, so werden wir bei allen Tierstämmen nachweisen, daß die Nucleolarsubstanz in einer erdrückenden Mehrheit von Fällen [aber bisher noch abgesehen von Hai- und Knochenfischen sowie Amphibien] bei ganz nahe Verwandten ein- und derselben Ordnung (wie hier die Leptomedusen) die denkbar größten strukturellen Differenzen und Volumunterschiede zeigen — und das bei ungefähr gleichen Kern- und Plasmagrößen, in Fällen also, wo wir doch wenigstens auf Grund unsrer primitiven, morphologischen Methoden, auch eine morphologische Einheitlichkeit dieser Kernkomponenten erwarten könnten.

Ein weiteres Beispiel dieser bisher unverständlichen Specifizität der Nucleolarsubstanz sei den

2. Würmern

entnommen. Bei den Hirndineen weist der Rüsselegel *Piscicola* in der Regel nur einen Nucleolus auf, während der kieferlose »Kieferegel« *Nephelis* zahlreiche Nucleolen ausbildet (Textfig. 12). Ein Vergleich der Eigrößen beider Species, der uns den eventuellen Einfluß der Polynucleolarität beim *Nephelis*-Ei zeigen könnte, läßt sich nicht anstellen, da beide Eier — wie aus meinen Arbeiten (1909 u. 1913) hervorgeht — weitgehende extraovocytäre Nähreinrichtungen besitzen.

Hier bei den Würmern interessiert uns nun noch das Verhalten der Nucleolarsubstanz im *Sagitta*-Ei, wie es durch die neueren Untersuchungen von Elpatiewsky (10), Buchner (10) und Stevens (10) bekannt geworden ist. Über die Entstehung dieser Nucleolarsubstanz gehen die Ansichten noch auseinander. Buchner hält es für möglich, daß die Randnucleolen der jungen Oocyten, die so in der Kernmembran liegen, daß man nicht sagen kann, »ob sie innerhalb oder außerhalb der Kernmembran liegen, unmittelbar von den Mitochondrien der vorhergehenden Bukettstadien abzuleiten sind.« Innerhalb der Eizelle selbst gäbe es also nach dieser Auffassung keine Nucleolarsubstanz. Für diese treten vielmehr als Ersatz die Mitochondrien, die bisher im Plasma lagen, ein[1]).

[1]) Eine ganz ähnliche Auffassung, die mit den gleichen Tatsachen begründet ist, hat Montgomery (99) für Ei- und Mesenchymzellen von Nemertinen geäußert. Bei Eizellen liegen die Nucleolen im Moment ihres Erscheinens in unmittelbarem Kontakt mit der Kernmembran. Für diese periphere Lage gibt es nach Montgomery nur eine Erklärung, und die ist, daß diese nucleoläre Substanz extranucleären Ursprungs ist. Bei Nemertinen ist diese in den Kern aufgenommene Substanz ganz ähnlich den Dotterschollen, die im Cytoplasma liegen. Bei *Lineus* werden die Dotterschollen oft halbwegs

Diese Mitochondrien leiten sich nun ihrerseits von einer gefressenen Zelle ab, die die noch sehr junge Oocyte der vorigen Generation aufgenommen hat. Die zu Mitochondrien degenerierten Bestandteile dieser gefressenen Zelle haben die Keimbahn bestimmt und sind so in alle Geschlechtszellen hineingeraten. Dort geraten sie in die Eikerne der jüngsten Oocyten hinein und bilden die Randnucleolen.

Textfig. 12.

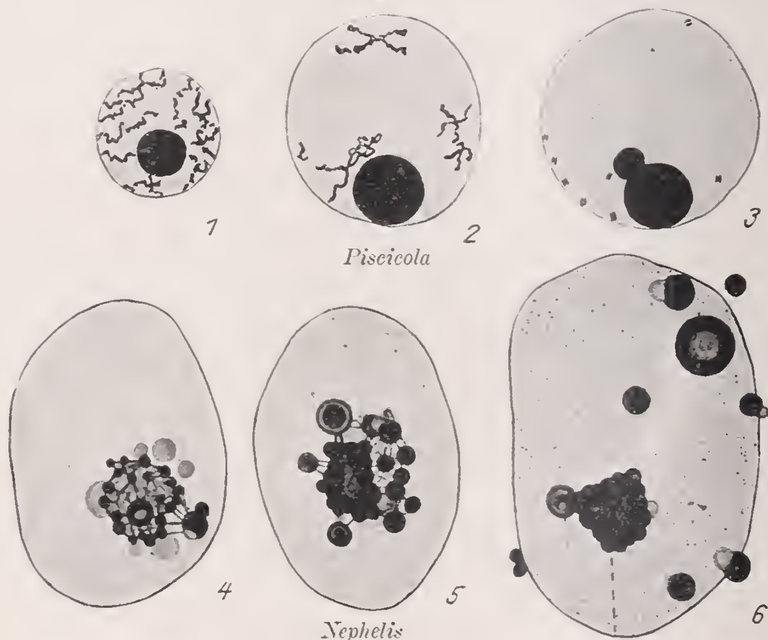


Fig. *1—3*. Keimbläschen von *Piscicola* mit — in der Regel — nur einem Nucleolus. Vergr. etwa 1000 ×.
Fig. *4—6*. Keimbläschen von *Nephelis* mit zahlreichen Nucleolen. Vergr. 1500 ×.

Ein solches Verhalten wäre, wenn es bestätigt werden sollte, von ganz prinzipieller Bedeutung für die Auffassung des Kernes als biologische Einheit.

---

durch die Kernmembran eingedrungen gefunden. Ihr Aussehen ist ganz gleich dem der Nucleolen. — In den Mesenchymzellen von *Cerebratulus* scheint die Nucleolensubstanz identisch zu sein mit der zahlreicher »nutritive granules«, die im Cytoplasma zerstreut sind. Diese Kügelchen liegen im Cytoplasma, ehe die Nucleolen im Kern auftreten; in dem Maße, wie die Granula in der Nachbarschaft des Kernes zahlreicher werden, beginnen die peripheren Nucleolen im Kern zu erscheinen.

Wir haben also hier ganz die gleichen Erscheinungen wie die von Buchner bei *Sagitta* geschilderten. In der Literaturbesprechung werden wir zeigen, daß uns die Beweisführung Montgomerys nicht stichhaltig erscheint.

Die Annahme ist aber nicht unwidersprochen geblieben. So leitet Elpatiewsky (10) die Randnucleolen von einem schon in den jüngsten Oocyten vorhandenen »pseudonucleolusartigen« Klumpen ab. Elpatiewsky ist also für ihre normale intranucleäre Entstehung, wie sie auch Stevens (10) annimmt.

Obwohl ich durch die Liebenswürdigkeit meines lieben Kollegen Buchner selbst Einblick in diese schwierigen Verhältnisse bei *Sagitta* nehmen konnte, möchte ich mich doch eines Urteils enthalten. Die fraglichen Verhältnisse sind sehr klein und E.-H.-Präparate, die bei der Kleinheit allein genügende Präzision bei der Beobachtung zuließen, nicht brauchbar, da sie alles — Nucleolen wie Mitochondrien — gleichmäßig geschwärzt zeigen. Vielleicht sind Benda-Präparate zur definitiven Feststellung dieses interessanten Vorganges geeigneter.

Bis dahin möchte ich nur noch auf folgende Punkte aufmerksam machen.

Das plötzliche Auftreten zahlreicher Randnucleolen nach dem Bukett, das Buchner mit zu seiner Diskussion der extranucleären Genese der Randnucleolen bestimmte, ist nicht so gar selten Regelmäßig findet es sich bei Amphibien (Fig. 8—10, Taf. III); besonders schön bei *Proteus* [Jörgensen (10), Textfig. 9, S. 34].

Man hat bisher in allen Eikernen zweierlei Chromatinarten (in Form der Nucleolen und Chromosome) aufgefunden; beide bilden sich innerhalb des Kernes selbst. Ganz abgesehen also von den oben erwähnten morphologischen Bedenken der Kleinheit und färberischen Unzulänglichkeit, möchte ich von diesem ganz allgemeinen Gesichtspunkte aus immer noch annehmen, daß sich — wie überall — so auch bei *Sagitta* die Randnucleolen normal, d. h. intranucleär bilden, sei es nun durch Zerfall eines schon vorher vorhandenen Nucleolus (Elpatiewsky), sei es durch Neuauftreten einer gleich größeren Anzahl von Nucleolen.

Diese Randnucleolen weisen nun, wie alle drei Autoren gleicherweise schildern, eine große Adhäsion zur Kernmembran auf. Die Nucleolarsubstanz buchtet sich in jungen Oocyten kugelförmig über den Kern hinaus vor (Fig. 34 u. 35, Taf. IV). In älteren Stadien liegt sie aber innerhalb der Kernmembran (Fig. 36 u. 37, Taf. IV).

Sehr interessant sind die Oberflächenbilder, die ja auch schon aus den Arbeiten obiger Autoren bekannt sind und hier nur wiedergegeben wurden, um zu zeigen, daß auch diese fraglichen Nucleolar- bzw. »Ersatz«-Nulceolarsubstanzen die charakteristische basische Reaktion aufweisen, während die chromosomale Substanz nach dem Bukett! (Fig. 34—36, Taf. IV) oxychromatisch reagiert.

Die anfangs rundlichen Nucleolen werden bald polygon (Fig. 29, Taf. IV) und wachsen zu zackigen Strängen aus (Fig. 30, Taf. IV). Diese sondern sich in zwei Partien, eine weniger intensiv gefärbte, in der Kernmembran suspendierte Nucleolargrundsubstanz, in der intensiv gefärbte, unregelmäßig verzweigte dickere Nucleolenmassen eingebettet sind (Fig. 31, Taf. IV).

Da die Nucleolarsubstanz mit dem Kernwachstum nicht gleichen Schritt hält, werden beide Substanzen mehr und mehr auseinandergezogen (Fig. 32 u. 33, Taf. IV). Hierbei verschwindet die Nucleolargrundsubstanz vollständig (Fig. 32, Taf. IV). Sie wird (scheinbar) verbraucht, wie später auch die intensiver gefärbte Nucleolarsubstanz (Fig. 33, Taf. IV). Auf dem Querschnitt sind in späteren Stadien nur noch Spuren von ihr nachweisbar (Fig. 39, Taf. IV).

Die Nucleolarverhältnisse bei *Sagitta* erinnern uns lebhaft an die weiter unten zu beschreibenden des Tiefseefisches *Melamphaës* (Fig. 105 bis 115, Taf. VII). Dort haben wir eine ähnliche — wenn auch viel bedeutendere Entwicklung der Nucleolarsubstanz unmittelbar an der Kernmembran. Weiterhin läßt sich dort ebenfalls ein wirklicher »Verbrauch« dieser Substanz während des Eiwachstums nachweisen. Wie bekannt, ist *Sagitta* ein ideales Objekt zur Demonstration der Kontinuität und Individualität der Chromosome während der Eiwachstumsphase (Fig. 34—39, Taf. IV). Bei der Konzentration der großen Lampenbürsten zu den kleinen Reifechromosomen schmelzen kleine Nucleolen ab (Fig. 38 u. 39), die sich ihrerseits mit Safranin tingieren.

3. Echinodermen.

Neben zahlreichen mononucleären Eiern, die Häcker zur Aufstellung seines »Echinodermentypus« (bei dotterarmen Eiern) bestimmt haben, und die nach den Untersuchungen von Schaxel (10) arm an interessanten Varianten sind, gibt es bei Echinodermen Formen, die infolge ihrer hochinteressanten polynucleären Zustände unsre Aufmerksamkeit beanspruchen. Jordan (07) hat uns zuerst mit den polynucleolären *Echinaster*- und *Cribrella*-Eiern bekannt gemacht. Wenn Jordan anfangs bei mononucleären Eiern die Hartmannsche (02) Annahme, daß die Nucleolarsubstanz die Chromosome liefert, widerlegt hatte, so glaubte er bei diesen polynucleolären Objekten Beweise für die nucleoläre Entstehung der Chromosome beibringen zu können. Eine Nachuntersuchung dieser wichtigen Frage wird augenblicklich im Münchner Zoologischen Institut von Dr. Rosen vorgenommen; und ihm verdanke ich den persönlichen Ein-

blick in diese Verhältnisse. Mit seiner Erlaubnis veröffentliche ich hier zwei Stadien der Ovogenese von *Echinaster sepositus*. Dieser besitzt nach ROSENS Befunden in jugendlichen Oocyten einen Nucleolus, der sich alsbald in viele kleinere Nucleolen auflöst (Fig. 92, Taf. VI); seine Derivate durchsetzen schließlich den ganzen Kern mit vielen Tausenden von kleinen globulitischen Nucleolen, die zum Teil noch nesterweise angeordnet — weiteren Schwärmen von Nucleolen Entstehung geben (Fig. 93, Taf. VI). Alle diese Nucleolen sind — entsprechend unserm Gesetz der umgekehrten Reaktion — basichromatisch.

Zwischen diesen Nucleolen liegen nun die oxychromatischen Chromosome, die besonders scharf mit E.-H. darstellbar sind und während des ganzen Eiwachstums erhalten bleiben, wie das auch JORDAN gezeichnet, wenn auch nicht gedeutet hat. Da ROSEN ausführliche Bilder dieser Chromosome geben wird, habe ich sie auf meinem kleinen Übersichtsbild (Fig. 93, Taf. VI) nicht mit eingetragen, zumal sie sich mit E.-H. noch bei weitem deutlicher darstellen lassen.

Durch die Untersuchungen ROSENS erfahren also die Angaben JORDANS die Korrektur, deren sie bedürfen, um mit unsrer einheitlichen Auffassung der nucleolären und chromosomalen Verhältnisse, wie wir sie bereits bei *Proteus* auseinandergesetzt haben (10), in Einklang gebracht zu werden.

Von den Mollusken möchte ich ausführlicher eingehen auf die zu den Prosobranchiern gehörigen Patellen, die mir in zahlreichen Species zur Verfügung standen. Die Mollusken besitzen ja bekanntlich Amphinucleolen, die aus zweierlei färberisch und chemisch differenten Substanzen bestehen. Zu ihrer Darstellung waren unsre basisch-sauren Farbgemische nicht geeignet, da sie die Nucleolarsubstanzen nicht färberisch different, sondern nur in Nuancen des basischen Farbstoffes erscheinen ließen. Als ausgezeichnetes Reagens auf Amphinucleolarsubstanzen hat sich das ZIMMERMANNsche Jodgrün-Fuchsin erwiesen.

Um nun unsre Schilderung der einfachen Nucleolarverhältnisse, die sich auf unsre basisch-sauren Farbgemische stützt, nicht unterbrechen zu müssen, werde ich die Mollusken an das Ende unsrer speziellen Betrachtung stellen und fahre fort mit den eignen Untersuchungen bei

4. Arthropoden.

Besonders interessante Verhältnisse fand ich bei den Chilopoden. Wie überall, so finden wir auch hier bei dotterreichen Eiern mononucleo-

läre Eikerne. So zeigt die zu den Geophiliden gehörige *Himentaria*[1]) während ihres riesigen Eiwachstums (Textfig. 13, Fig. 1—5) nur einen einzigen Nucleolus (Fig. 40—43, Taf. V). Die nahe verwandte *Scolopendra*[2]), die bei vergleichbaren Kerngrößen bedeutend geringere Zell-

Textfig. 13.

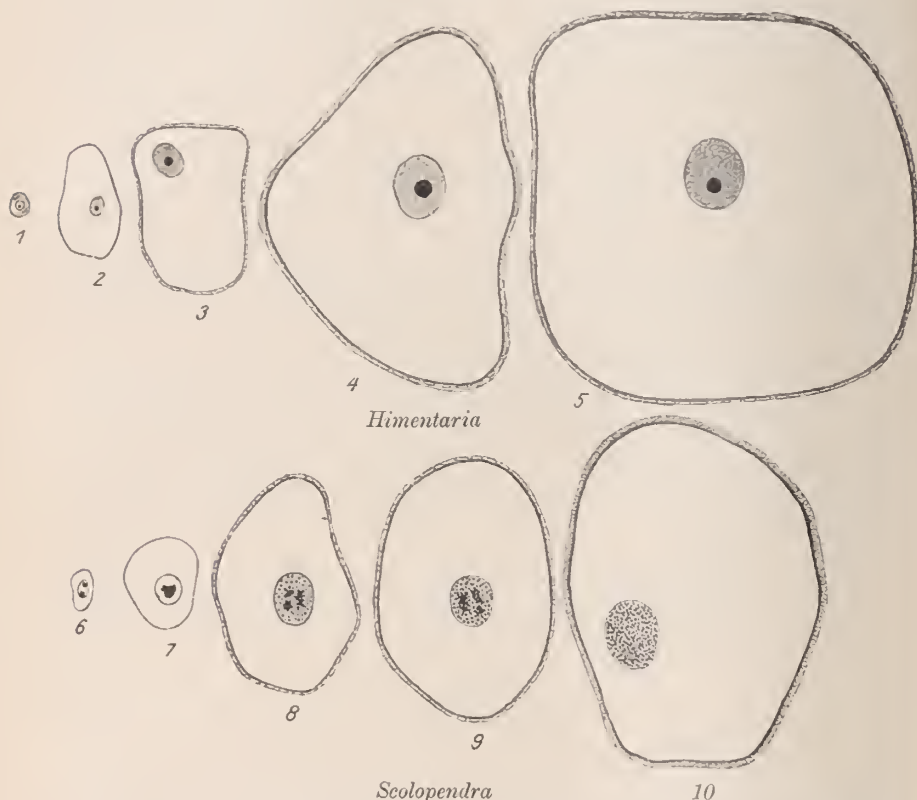


Fig. 1—5. Umrisse der mononucleolären *Himentaria*-Eier. Fig. 6—10. Umrisse der polynucleolären *Scolopendra*-Eier. Beide Serien etwa 120 × vergr.

volumina besitzt (Textfig. 13, Fig. 6—10), hat dagegen ganz extrem entwickelte Nucleolarverhältnisse.

[1]) Das Material von *Himentaria* verdanke ich Herrn Dr. Krumbach, der mich mit diesem, sowie mit zahlreichem andern lebenden Material liebenswürdigst von Rovigno aus versah.

[2]) Das Material von *Scolopendra* sammelte Herr Nachtsheim bei Opcina (Triest) und sandte es mir lebend zu. Auch ihm meinen herzlichen Dank.

Ich brauche wohl nicht darauf hinzuweisen, daß nach der HÄCKERschen Annahme das *Scolopendra*-Ei zu dem »dotterreichen Vertebratentypus« gehört, daß aber das viel größere mononucleoläre Ei von *Himentaria* dem »dotterarmen Echinodermentypus« zuzuteilen wäre.

Das *Himentaria*-Ei ist bei seinem mononucleolären Zustand als solches völlig uninteressant; um so auffälliger ist aber das *Scolopendra*-Ei, das mit seinen scheinbar »ganz unmöglichen« Nucleolarstrukturen, alle Objekte mit extremer Nucleolenausbildung, die mir zu Gesicht gekommen sind, bei weitem in Schatten stellt.

Im jungen *Scolopendra*-Ei finden sich neben den oxyphilen Chromosomen ein oder zwei Nucleolen (Fig. 44 u. 45, Taf. V). Dieser, meist in Einzahl vorhandene Nucleolus wird vacuolisiert (Fig. 46) und zerschnürt sich in viele kleine globulitische Nucleolen (Fig. 47). Dieser Nucleolenkomplex wächst nun ganz enorm heran (Fig. 48 u. 49) und zerstreut sich schließlich im ganzen Kern (Fig. 50). Hierbei geht die Vermehrung der Nucleolarsubstanz — wie beim *Echinaster*-Ei — scheinbar von »Inseln« aus (Fig. 51). Endlich ist der ganze Kern dicht mit kleinen, mehr oder weniger rundlichen Nucleolen angefüllt (Fig. 52). Diese liegen so dicht, daß sie die oxychromatisch gefärbte Kerngrundsubstanz mit ihren Chromosomen vollkommen verschleiern. Dieses einseitige Überwiegen der Nucleolarsubstanz erscheint auf den ersten Blick als ein im Zelleben ganz unmöglicher Zustand. Wie ich an den zahlreichen Tieren prüfen konnte, sind pathologische Vorgänge mit Sicherheit auszuschließen.

Interessant erscheint mir ferner die Tatsache, daß die Nucleolarsubstanz im Verlauf ihres Wachstums ihre färberische Affinität zu den basischen Farbstoffen ändert. Die anfangs z. B. mit Safranin leuchtend rot gefärbten Nucleolen, nehmen später weniger Safranin an (vgl. Fig. 48 mit Fig. 52).

Diese färberische Änderung ist bereits von mehreren Autoren festgestellt, so von RHODE (03), BÖHMIG (98), ZACHARIAS (10), STAUFFACHER (11) u. v. a. Ich selbst habe sie gefunden bei *Eutimium*, *Sagitta*, *Scolopendra* (siehe allgemeiner Teil, Abschnitt 6 [3], S. 105), und ist parallel dem Verhalten der Nucleolarsubstanz gegenüber Pepsinsalzsäure, wie wir das später in einem besonderen Kapitel über die Verdauung noch ausführen werden.

Ein Vergleich des *Himentaria*- und *Scolopendra*-Eikernes (Fig. 43 u. 52, Taf. V) lehrt uns, daß ein Korrelationsverhältnis zwischen Nucleolarsubstanz einer- und chromosomaler Substanz anderseits nicht besteht. A priori könnte man ja erwarten, daß einer gewissen Menge von oxychromatischer Chromosomen- auch eine gewisse Menge basischer

Nucleolarsubstanz entspräche, daß also eine Art »Gleichgewicht« zwischen beiden Kernhauptkomponenten bestünde. Diese Vermutung wird aber auf das schlagendste durch die Eier unsrer beiden — so nahe verwandten und deshalb auch chemisch ähnlich gebauten — Species widerlegt.

Bei *Himentaria* viel oxychromatische chromosomale Substanz, wenig basische Nucleolarsubstanz; bei *Scolopendra* das umgekehrte Verhältnis in ganz extremer Weise zugunsten des Nucleolarapparates ausgebildet!

Von den Insekten stand mir leider nur wenig Orthopterenmaterial zur Verfügung, das ich zum großen Teil der Liebenswürdigkeit von Kollegen Buchner verdanke. Es wäre sehr wünschenswert, wenn man die Insekten (besonders ihre primitiven Gruppen mit ihrem nucleären Eiwachstum; siehe Kapitel 1) im großen Stile vergleichend cytologisch untersuchte.

Wie überall, so finden wir auch hier die große Specifizität der Nucleolarsubstanz. Beginnend mit mononucleären Formen, treffen wir Orthoptereneier mit zahlreichen »Randnucleolen«, solche mit doppelter Nucleolarsubstanz, und schließlich sogar welche mit »Ersatznucleolen«.

Als Beispiel für das mononucleoläre Orthopterenei sei auf *Blatta* verwiesen (Fig. 53—56, Taf. V), wo während des ganzen Eiwachstums ein Nucleolus vorhanden ist. Kompliziertere — scheinbar polynucleoläre — Verhältnisse mit einem präponderierenden »Haupt«nucleolus scheint *Periplaneta* zu besitzen. Leider war mein diesbezügliches Material ungenügend konserviert.

Von den Saltatorien gelangten drei Formen zur Untersuchung. Am einfachsten verhält sich *Decticus* (Fig. 57—61, Taf. V). Der in jungen Oocyten in Einzahl vorhandene Nucleolus zerfällt scheinbar in mehrere Nucleolen (Fig. 57; oder aber es entstehen an seiner Oberfläche mehrere neu), die sich im Kern zerstreuen (Fig. 58) und anfangs noch in Zügen angeordnet sind (Fig. 59, Kernanschnitt), später sich aber regelmäßig verteilen (Fig. 60, Kernanschnitt). Nach weiterem Kernwachstum enthalten die *Decticus*-Eier schließlich viele Tausende von kleinen Nucleolen, die wegen ihrer peripheren Lage ohne weiteres als »Randnucleolen« zu bezeichnen sind (Fig. 61, Querschnitt).

Komplizierter liegen die Verhältnisse schon bei *Gryllotalpa* (Fig. 62 bis 70, Taf. V). Auch hier haben wir in jungen Eiern einen Nucleolus, der die Grundlage zu einer größeren Anzahl neuer Nucleolen bildet (Fig. 62 bis 64). Diese verteilen sich bei weiterer Vermehrung nun nicht im ganzen Kern, sondern bleiben an einem Kernpol liegen (Fig. 65—67). Innerhalb

dieser globulitischen Nucleolenkalotte erscheint nun ein oxyphiler Nucleolus (Fig. 67), der während der weiteren Wachstumsstadien dauernd heranwächst (Fig. 68—70). Nach weiterer Vermehrung der basichromatischen Nucleolarsubstanz (Fig. 68 u. 69) scheint gegen Ende des Eiwachstums eine Abschmelzung der betreffenden Nucleolarsubstanz stattzufinden (Fig. 70).

Während also vier Orthopteren: *Blatta*, *Periplaneta*, *Decticus* und *Gryllus* (siehe später) nur eine Art von Nucleolarsubstanz aufweisen, tritt uns bei *Gryllotalpa* die Nucleolarsubstanz in zweierlei färberischer Gestalt entgegen. Eine Erklärung hierfür läßt sich mit morphologischen Methoden nicht geben.

Hier muß ich nun noch etwas ausführlicher eingehen auf die nucleolare Substanz des *Gryllus*-Eies. Buchner (09) hat in den Ovogonien dieser Orthoptere einen »accessorischen Körper« beschrieben, der bei der letzten Oogonienteilung nur in die eine Oocyte gelangen soll, während die andere diesen Körper nicht erhält und infolgedessen später degenerieren soll. Die große Variabilität dieses Körpers bezüglich seiner Form und Konsistenz während der Mitose, soll die niedrig organisierte Natur dieses Gebildes beweisen.

Während des Bukettstadiums schickt dieser accessorische Körper einen Abströmungsfortsatz nach dem Bukettpol. Hierdurch soll er an chromatischer Substanz verlieren und sich vacuolisieren. Buchner vergleicht dieses Verhalten mit dem Abströmungsfortsatz des accessorischen Chromosoms der Spermatogenese und hält den accessorischen Körper der Ovogenese für ein dem accessorischen Chromosom völlig analoges Gebilde, das anderseits aber auch enge morphologische Beziehungen zum Giardinaschen Ring haben soll. Diese Angaben sind nicht unwidersprochen geblieben (Gutherz 10). Auch ich kann mich bisher noch nicht von der heterochromosomalen Natur des accessorischen Körpers bei *Gryllus* überzeugen.

a) Viel ungezwungener scheint es mir, ihn für einen Nucleolus zu halten, der während der Oogonienteilung längere Zeit erhalten bleibt, wie das ja — während der Reifeteilungen — für viele Fälle (wie *Aequorea*, *Echinus*, *Ophryotrocha*, Copepoden, *Limax*, *Myzostoma*, *Sykon*) bekannt ist. Die von Buchner konstatierte Variabilität seiner Form und Konsistenz zeigt eben, daß er allmählich im Plasma degeneriert.

b) Ein Stadium, wo der fragliche — nur in die eine Oocyte aufgenommene Körper — nun auch wirklich nur in der einen Oocyte wahr-

nehmbar ist, konnte nicht gefunden werden, da diese Rekonstruktionsstadien sehr selten waren.

c) Der Abströmungsfortsatz, den der accessorische Körper in der jungen Oocyte nach dem Pol des Buketts zu schicken soll, braucht nicht als solcher gedeutet zu werden. Die nucleoläre Substanz des *Gryllus*-Eies zeigt eine so große Adhäsion zur Kernmembran, daß sie sich oft (nicht immer, z. B. Fig. 71, Taf. VI) flächenhaft an ihr ausbreitet. Diese Ausbreitung ist aber nicht nur während des Buketts (Fig. 120 bis 122, Taf. V bei Buchner), sondern ebenso gut auch in den Oogonien sichtbar (Fig. 102 u. 103, Taf. IV bei Buchner). Hier wäre aber die Deutung als »Abströmungsfortsatz« nicht am Platze, da es ja gar keine polare Orientierung gibt! — Nach all dem kann ich mich nicht davon überzeugen lassen, daß es einen accessorischen Körper oder ein Heterochromosom im *Gryllus*-Ovar gibt.

Ich halte diesen Körper für einen normalen Nucleolus von etwas zähflüssiger Beschaffenheit (die ihn sich in Ovogonien und Oocyten gelegentlich stark an der Kernmembran ausbreiten läßt). Während der Oogonienteilungen degeneriert er nur langsam und ist wegen seiner Zähflüssigkeit oft als chromosomenartiges Gebilde neben der Äquatorialplatte sichtbar. Bei seinem langsamen Zerfall gelangt er nur in die eine Oocyte, wo er dann degeneriert. Entsprechend seiner Nucleolarnatur muß er in jedem rekonstruierten Tochterkern wieder — de novo — aufgebaut werden.

Betrachten wir nun das weitere Schicksal dieses nucleolenartigen Körpers im *Gryllus*-Ei. In den Oogonien und im Bukettstadium zeigt er die für alle Einucleolen charakteristische basische Reaktion, wie die Chromosome selbst (Fig. 71, Taf. VI). Während diese aber ihre basische Reaktion einbüßen (Fig. 72 u. 73 im Verlaufe des diplotenen und dictyenen Stadiums), behält er sie bei seinen folgenden Metamorphosen bei. Bei ihrer Schilderung kann ich mich an Buchners Angaben halten. Ein Teil des Körpers vacuolisiert sich (Fig. 73) und verteilt sich um einen stark gefärbten, central gelegenen nucleolären Kern (Fig. 74). Der vacuolisierte Teil breitet sich immer mehr aus und zerfällt in zahlreiche, stark basische Granula (Fig. 74). In allen Fällen fand ich an der Polseite des Buketts noch ein zweites chromatisches Korn. Dieses wird zum Centrum eines zweiten nucleolenartigen Körpers (Fig. 71—74), indem es von der Kernperipherie abrückt und zahlreiche Granula um sich sammelt (Fig. 74 u. 75). Von beiden Centren können nun noch mehrere abknospen (Fig. 75—77), so daß sich fünf und mehr nucleoläre Centren im Eikern finden, die in ihrem Innern die nucleolusartige, kugelige Ver-

dichtung zeigen. Diese lösen sich auch granulär auf, bilden zuletzt noch eine lokale, peripher gelegene Körnchenansammlung (Fig. 78) und verteilen sich schließlich diffus im Eikern (Textfig. 14).

Textfig. 14.



Gryllus campestris. Keimbläschen eines mittelgroßen Eies mit durch den ganzen Kern verteilter, körniger Nucleolar-Substanz, die intensiv geschwärzt ist (bei E.-H. Färbung). Die heller gefärbten Chromosome durchsetzen als verwaschenes Reticulum mit gelegentlichen Verdichtungszonen den ganzen Kern. Färbung E.-H. Vergr. 1080. Endstadium der Serie Fig. 71—78, Taf. VI.

Während dieser ganzen Zeit sind die oxychromatischen Chromosome (Fig. 73—78 und Textfig. 14) als stärker gefärbte Wolken im Kerne sichtbar.

Wir haben hier drei Species von Orthopteren kennen gelernt, die polynucleoläre Zustände aufweisen, die jeweils voneinander beträchtlich verschieden waren.

Wie überall, so findet sich aber auch hier die größte Specifizität der Nucleolarsubstanz. Und so interessiert es uns denn hier, zu erfahren, daß es auch Lokustiden mit den denkbar einfachsten Nucleolen gibt. Buchner (10) hat im *Troglophilus* eine Species beschrieben, die einen einzigen ganz normalen Nucleolus aufweist.

5. Wirbeltiere.

Über die Eikerne der Selachier, Knochenfische und Amphibien sind wir durch die älteren, ausgezeichneten Arbeiten von Rückert (92) und Born (94), sowie durch die neueren von Levi (06), Maréchal (04, 06), King (08) und Jörgensen (10) in sofern orientiert, als eine strenge Trennung beider Kernkomponenten während des ganzen Eiwachstums durchgeführt ist und die Kontinuität der chromosomalen Substanzen in den meisten Fällen sichergestellt ist.

Ich will diesmal unsre Kenntnisse dadurch erweitern, daß ich sie auf die Eier der Lungenfische und der Tiefseefische ausdehne.

Von den Lungenfischen habe ich Lepidosirenovarien durchgesehen, die ich der Liebenswürdigkeit von Herrn Müller-Mainz verdanke. Wie überall zeigen auch hier die Chromosome kurz nach den synaptischen Stadien die basische Reaktion (Fig. 129, Taf. VII); die später aus ihnen sich bildenden, äußerst zierlichen Lampenbürsten sind wie immer oxychromatisch. An der Kernperipherie finden sich äußerst zahlreiche basische Randnucleolen (Fig. 130 u. 131). So weit mein Material reichte, war durchaus ein dauerndes Vorhandensein der Chromosome festzustellen.

Ganz ähnliche Verhältnisse weist der aus mehreren tausend Metern Meerestiefe stammende Makropharynx auf. Seine Eier waren typische Knochenfischeier.

Sehr interessante morphologische Verhältnisse der Nucleolarsubstanz fand ich dagegen bei einem andern Tiefseefisch *Melamphaēs*, den mir Herr Dr. Zugmayer in zwei verschiedenen Species zur Verfügung stellte. Ich beginne meine Schilderung mit den Vorgängen im Ei von *Melamphaēs nigrescens*.

Die jungen Oocyten besitzen einen centralen, chromatischen Nucleolus (Fig. 105 u. 106, Taf. VII). Während des folgenden Kernwachstums treten zuerst staubförmige und im ganzen Kern verstreute, zahlreiche Nucleolen auf (Fig. 107), die in der Nähe der Kernmembran liegen und dort zu typischen Randnucleolen heranwachsen (Fig. 108 u. 109). Bei Betrachtung von Oberflächenbildern bemerken wir, wie die anfangs normal kugeligen Randnucleolen sich abflachen und gerade wie Amöben Pseudopodien aussenden (Fig. 110). In diesen

polymorphen Randnucleolen treten nun zahlreiche Vacuolen auf, die durch ihr Wachstum den bisher einheitlichen Nucleolus in bizarre fädige Komplexe zerlegen (Fig. 111). Diese ziehen sich immer mehr zu richtigen chromosomenartigen Strängen aus, die, wie die Fig. 112 u. 113 zeigen, häufig Achterfiguren und alle andern tetradenartigen Erscheinungsformen von Chromosomen vortäuschen können. Diese Gebilde erinnern lebhaft an die von *Obelia* (Fig. 20—26, Taf. IV) beschriebenen Bilder, nur daß sie hier bei *Melamphaës* in ganz unglaublicher Massenentfaltung und nur an der Kernmembran gelegen auftreten. Auf dem Höhepunkt der Entwicklung ist die ganze Kernoberfläche dicht mit den gleichmäßig dicken, chromosomenartigen Nucleolen belegt (Fig. 114).

Von jetzt ab macht sich nun ein schneller Schwund ihrer Substanz bemerkbar. Sie erfährt bei dem weiteren Kernwachstum nicht nur keinen weiteren Zuwachs, sondern nimmt tatsächlich ab; sie wird verbraucht. Auf späteren Stadien (Fig. 115) sind die einzelnen »Nucleolentetraden« weiter auseinandergerückt und haben an Größe bedeutend eingebüßt. [Besonders möchte ich hier noch auf die Doppelringe, Achterfiguren, Kreuze usw. der Fig. 114 und 115 aufmerksam machen.]

Auf der Querschnittserie der Fig. 100—104, Taf. VI, finden wir zuerst die normalen, kugeligen Randnucleolen (Fig. 100), die sich dann abflachen (Fig. 101) und unter Vacuolisation (Fig. 102) die in das Kerninnere sich vorbuchtenden strangförmigen Nucleolen bilden (Fig. 103). Der Schwund der Nucleolarsubstanz zeigt sich auch auf dem Querschnitt (Fig. 104). An Stelle eines Randnucleolus sehen wir hier die »Nucleolustetrade«.

Die weiteren Stadien waren leider in dem Ovar von *Melamphaës nigrescens* nicht vorhanden.

Dafür fand sich aber eine andre, bisher noch nicht bestimmte *Melamphaës*-Species, die die bisher geschilderten nucleolären Strukturen in noch ausgeprägterer Weise zeigte.

Die Querschnittserie der Fig. 116—125, Taf. VII, illustriert diese bisher einzig dastehenden Strukturen. Auch hier findet sich in den jüngsten Oocyten ein Nucleolus (Fig. 116), neben dem bald weitere kleine Randnucleolen entstehen (Fig. 117), die zu normalen kugeligen Nucleolen heranwachsen. Wie bei der Species *M. nigrescens* flachen sie sich auch hier ab (Fig. 118), vacuolisieren sich (Fig. 119) und wachsen in das Kerninnere hinein (Fig. 120); jedenfalls weil der Raum unmittelbar unter der Kernoberfläche nicht mehr genügend Platz bietet zur Aufnahme ihrer bedeutend herangewachsenen Substanz. Fig. 121 zeigt die flockige Lockerung der Randnucleolen, die immer weiter fortschreitet, so daß

sie schließlich ineinander »überfließen« (Fig. 122). Diese fädig-körnelig ausgezogenen Nucleolarmassen verlassen nun ihre Lage dicht unter der Kernmembran (Fig. 122) und wandern in das Kerninnere. Dort bilden sie mehr oder weniger zusammenhängende körnige Fadenwerke (Fig. 123). Innerhalb des Kernes wachsen sie nun noch bedeutend heran und erfüllen drei Viertel des Kernvolumens an der äußeren Kernperipherie mit ihren Strangwerken. Die Fig. 124 zeigt den Höhepunkt ihrer Entwicklung.

Bei fortgesetztem Kernwachstum werden aber auch sie zurückgebildet, werden auch sie »verbraucht«. In Fig. 125 sind die letzten Reste dieser enormen Nucleolarmassen zu sehen. Aber auch diese schwinden, so daß der Kern während der noch folgenden, langen Wachstumsperiode des Eies nur noch eine einzige Chromatinart: die oxychromatische Chromosomensubstanz (+ Kernsaft und »Achromatin«) aufweist.

Diese äußerst seltene Tatsache, die mir nur in diesem einen Falle zu Gesicht gekommen ist, erscheint mir von äußerster Wichtigkeit. Ist es doch die Regel, daß jeder Kern seine Nucleolarsubstanz und mangels dieser seine »Ersatznucleolar«-Substanz (*Dytiscus*, *Gryllus*, *Sagitta*) hat, die sich aber wohl auch als gewöhnliche Nucleolarsubstanz entpuppen wird. Wenn daher Montgomery (99) angibt:

»Es gibt keine Zellen ohne Nucleolus. Es gibt eine Variabilität, die zur Vergrößerung der Nucleolenzahl führt, es gibt aber keine Variabilität, die bis zum völligen Verschwinden der Nucleolarsubstanz führt.«

so hat er hiermit sicherlich eine ganz allgemeine, wichtige Gesetzmäßigkeit ausgesprochen, über die man sich allerdings erst späterhin genügende Vorstellungen wird machen können. Es gibt aber doch auch, wie eben gezeigt, wenn auch selten, Ausnahmefälle.

Diese berechtigen uns nun aber keineswegs etwa dazu, die Nucleolarsubstanz als eine untergeordnete Substanz im Stoffwechsel des Kernes hinzustellen, wie das neben Häcker besonders Korschelt und Heider (02) in ihrem Lehrbuche versuchen, wenn sie schreiben:

»Das Keimbläschen kann mit einem mehr oder weniger dichten Netz- oder Fadenwerk chromatischer und achromatischer Substanz erfüllt sein, zwischen welche sich vielfach verschieden geformte Ballen von nucleolenartiger Beschaffenheit einlagern. Letztere bilden jedoch durchaus keinen notwendigen Bestandteil des Keimbläschens und fehlen oftmals ganz.«

Wir müssen diese Annahme von der Wertlosigkeit und dem tatsächlichen Fehlen der Nucleolarsubstanz ganz strikte zurückweisen, besonders da keine Beweise beigebracht werden. Im Gegenteil, die Nu-

cleolarsubstanz ist eine enorm wichtige, für das Zelleben unentbehrliche Substanz, die wie ihre funktionellen Strukturen beweisen, aktiv in das Kerngeschehen eingreift. Deshalb findet sie sich auch in jedem Zellkern, besonders aber im wachsenden Eikern.

Es ist natürlich müßig, darüber zu streiten; was ist wichtiger im Kern? — die Chromosome oder die Nucleolen.

Diese Frage ist ebenso müßig wie die nach der Superiorität des Kernes oder des Plasmas in der Zelle.

Beide sind für den Kern bzw. die Zelle unentbehrlich, beide sind gegenseitig auf sich angewiesen, beide können nicht allein für sich — ohne die andre Komponente — dauernd existieren.

Nach dieser Abschweifung kehren wir zum *Melamphaës*-Ei zurück. Während des ganzen Eiwachstums sind die Chromosome im oxychromatischen Kernreticulum suspendiert, als zierlich gewundene, dünne Lampenbürsten durchsetzen sie den ganzen Kern ziemlich gleichmäßig (Fig. 125, Taf. VII).

Unsre beiden Nucleolenserien zeigen nun, welche ganz extreme — mit ihrer Funktion zusammenhängende — Oberflächenvergrößerung die Nucleolarsubstanz erfahren kann, und wie diese eigenartigen, an Chromosomentetraden erinnernden Strukturen der Nucleolen leicht zu Verwechslungen mit Chromosomen führen kann. Mit Hilfe unsrer Erkenntnis der umgekehrten Reaktionsweise der Kernkomponenten des wachsenden Eikernes ist es aber ein leichtes, diesen fundamentalen Irrtum, dem wahrscheinlich — neben andern — Carnoy, Lebrun, Fick u. a. zum Opfer gefallen sind, zu vermeiden.

Wie überall, so ist auch hier bei den Wirbeltieren unser Bestreben, durch Nebeneinanderstellen nahe verwandter Formen Einblick in die Natur der Nucleolarsubstanz zu erhalten. Wir haben bisher auf diese Weise die ganz specifische Ausbildung der Nucleolarsubstanz festgestellt. Es liegt nun zum weiteren Beweise dieser Tatsache nahe, nach Fisch- bzw. Amphibieneiern zu suchen, die im Gegensatz zu den bisher beschriebenen polynucleolären Formen nur wenig Nucleolarsubstanz in einem Nucleolus besitzen. Die Fische und Amphibien scheinen aber, soweit bisher bekannt, in dieser Hinsicht eine ziemlich einheitlich gebaute Klasse zu sein. Wenn auch ganz beträchtliche Massenschwankungen der Nucleolarsubstanzen bei den einzelnen Fischen und Amphibien vorkommen (ich bitte z. B. nur zu vergleichen Fig. 130 u. 131 [Lepidosiren] mit Fig. 114, Taf. VII [*Melamphaës*]), so ist mir doch kein Fall bekannt, wo die Nucleolarsubstanz so reduziert wäre, daß sie auf einen Nucleolus konzentriert ist. Von den großen, dotterreichen Eiern der Chordaten ist

bisher (mit Ausnahme einiger Vögel) nur *Petromyzon* als Objekt mit einem einzigen Nucleolus bekannt. Ich fand nun die gleichen Verhältnisse bei dem marinen *Bdellostoma* (Fig. 126—128, Taf. VII), das ich der Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Doflein verdanke. Diese marinen Neunaugen, die ja mehrere Zentimeter große Eier produzieren, scheinen dauernd nur einen basichromatischen Nucleolus zu besitzen (daneben finden sich vereinzelt auch kleine oxychromatische, Fig. 127).

Dieses Verhalten steht in auffälligem Gegensatz zu den Fischen und Amphibien mit ihren vielen Tausenden von Nucleolen. Auch hier wieder ein Beweis von der großen Specifizität der basichromatischen Nucleolarsubstanz.

Es wäre sehr interessant, unter diesem Gesichtspunkte die Myxinoiden zu untersuchen. Wie überall, so sind auch bei *Bdellostoma* die Chromosome während des Eiwachstums oxychromatisch (Fig. 126 u. 127) und anfangs noch deutlich auch bei dieser Reaktion sichtbar. Auf späteren Stadien sind sie dagegen nur mit E.-H. nachzuweisen.

6. Mollusken.

Vorbemerkung.

Die große Specifizität der Nucleolarsubstanz hat sich wie ein roter Faden durch unsre bisherigen Betrachtungen gezogen. Die höchste Ausbildung dieser Specifizität fand ich nun bei den Mollusken und zwar bei verschiedenen *Patella*-Species. Bekanntlich finden sich in verschiedenen Wurm- und Arthropodeneiern — gelegentlich auch in Eiern andrer Tierklassen — besonders aber bei den Molluskeneiern zweierlei chromatophile Nucleolarsubstanzen (vgl. Montgomery 99, S. 501 und Obst 99). In den meisten bisher beschriebenen Fällen sind beide Nucleolarsubstanzen entweder in einem »Amphinucleolus« vereinigt, oder auf zwei färberisch differente Keimflecke verteilt[1]). In den Keimbläschen verschiedener *Patella*-Species fand ich nun die erwähnte, bisher ganz ungeahnt große Variationsbreite im Verhalten der Nucleolarsubstanzen, die — von dem beschriebenen einfachen Verhalten von einem Amphi- oder zwei färberisch differenten »Haupt- und Nebennucleolus« aus — äußerst komplizierte morphologische Verhältnisse aufweisen können und in ihrer maximalen Ausbildung an die zahlreichen Randnucleolen des Fisch-

[1]) Als Ausnahme beschreibt Obst (99, Fig. 24, Taf. XII) in *Limax*-Eiern bis zu 16 Nucleolen; bei *Tegenaria*-Eiern (S. 194) sogar bis 22. Diese vereinigen sich zu zwei bis drei, um dann wieder in eine größere Anzahl zu zerfallen. Bei Montgomery (99) und Obst siehe auch die spezielle Literatur bis 99.

Amphibienkeimbläschens erinnern, jedoch mit dem Unterschied, daß jeder »Randnucleolus« des *Patella*-Eies seinerseits aus zwei Substanzen besteht, also ein »Amphinucleolus« ist.

Hier muß ich noch einige Worte über die Methode einfügen. Das von mir gesammelte Material war am besten in wässerigem Sublimat fixiert. Eisessigzusatz schadete immer. Zahlreiches Material stellte mir Herr Prof. Doflein in liebenswürdigster Weise aus der Münchener Staatssammlung zur Verfügung. Dieses Material eignete sich — obwohl es nur in Alkohol konserviert war — wider Erwarten ganz gut zu cytologischen Untersuchungen.

Zur färberisch differenten Darstellung der verschiedenen Nucleolarsubstanzen erwiesen sich unsre bisher mit Erfolg verwendeten basischsauren Farbstoffe nicht geeignet. Sie färbten die verschiedenen Nucleolarsubstanzen nur in Nuancen des basischen Farbstoffes[1]). Deshalb griff ich zur Jodgrün-Fuchsinmethode von Zimmermann (95), die mir ganz ausgezeichnete Resultate bot. Mit ihr konnte ich zwei färberisch und morphologisch sich verschieden verhaltende Arten von Nucleolarsubstanz auseinanderhalten.

1. Die nach Zimmermann rot gefärbten Nucleolen tingierten sich mit den basischen Chromatinfarben (Delafield, Safranin usw.) am intensivsten, und wären demnach als »Chromatinnucleolen« anzusprechen.

2. Die nach Zimmermann blau gefärbten Nucleolen zeigen nur eine geringe Affinität zu den basischen Chromatinfarben, weshalb sie wohl als »Plastinnucleolen« anzusprechen wären.

Bei der Beschreibung vermeide ich die Ausdrücke »Chromatin-« und »Plastin«-Nucleolus. Denn erstens ist mir die färberische Selektion des Zimmermannschen Farbgemisches ganz unklar und zweitens werden wir später zeigen, daß auch die sogenannten »Chromatinnucleolen« in mehrere Klassen (mit Pepsin verdauliche und unverdauliche) zerfallen. Deshalb spreche ich nur von roten und blauen Nucleolen. Gemeint sind immer Präparate nach Zimmermann, nach dessen Methode die Präparate der Taf. VI—VIII hergestellt wurden.

I. Patella rota (?)

(Fig. 132—141, Taf. VIII.)

Diese aus dem Roten Meer stammende Species weist die einfachsten Verhältnisse auf, die sich eng an die bisher bekannten Verhältnisse des

---

[1]) Ähnliche Unzulänglichkeiten der Chromatinfarben fand z. B. Stauffacher (94 u. 11). Nach ihm färbte sich die doppelte Nucleolarsubstanz von *Cyclas* mit Hämalaun gleich tiefblau, so daß zwischen beiden Nucleoli nur ein Größenunterschied bestand. Schon früher stellte Flemming (1882) S. 448, fest, daß sich bei Anwendung von Kerntinktionen zwar der stark lichtbrechende Teil der Nucleolen besonders intensiv färbt, aber in erheblichem Grade auch der andre Teil und die Nebennucleolen, zugleich natürlich auch das Kerngerüst. Auch Floderus (1896) »findet bisweilen Fälle, wo die Nebennucleolen sowohl von Hämatoxylin als Eosin, sowie auch von Safranin und Gentianaviolett gleich stark gefärbt werden«.

Molluskeneies anschließen. In den jüngsten Oocytenstadien (Fig. 132) findet man neben den blau gefärbten Chromosomen einen kleinen rot gefärbten Nucleolus, der während des ganzen Oocytenwachstums (wenigstens morphologisch) erhalten bleibt (Fig. 132—138, Taf. VIII). Neben diesem tritt in jungen Oocyten ein zweiter, kleinerer, blau gefärbter Nulceolus auf. Während unser rot gefärbter Nucleolus aber — proportional dem Kernwachstum — mächtig bei großer Vacuolenbildung anschwillt (Fig. 132—138, Taf. VIII), bleibt der neu aufgetretene blaue Nucleolus immer ziemlich klein (Fig. 133—141, Taf. VIII).

Bis zu den Stadien der Fig. 137 und 138, Taf. VIII, zeigt das Keimbläschen also keine Besonderheiten. Bei weiterem Wachstum treten nun plötzlich zahlreiche intensiv rot gefärbte Nucleolen auf (Fig. 139 bis 141, Taf. VIII). Diese lassen sich in ihrem ersten Entstehen bis auf die Fig. 137 und 138, Taf. VIII, — wo sie sich als feinste Stäubchen anlegen — zurückverfolgen; bei weiterem Kernwachstum erlangen sie die beträchtliche Anzahl und Größe der Fig. 139—141 und 141*a*, Taf. VIII.

Mit dem Auftreten der zahlreichen rot gefärbten Nucleolen hat unser alter Nucleolus dieser Reaktionsart (Fig. 138, Taf. VIII) seine rote Färbung eingebüßt (Fig. 139, Taf. VIII). Er ist zu einer großen, blau gefärbten, stark vacuolisierten, kugeligen Blase geworden[1]). In seinem Centrum findet sich eine große Vacuole, seine Wand erweist sich bei Oberflächenansicht fein bis grob vacuolisiert (Fig. 141*a*, Taf. VIII). Diese morphologische Parallelität legt die Vermutung nahe, daß die zahlreichen, kleinen, rot gefärbten Nucleolen als Ersatz oder zur Verstärkung ihres großen (der Degeneration anheim gefallenen?) Bruders eingetreten sind.

[In Parenthese will ich hier noch ein abnormes Verhalten der Nucleolarsubstanz erwähnen, das uns zu den weiteren komplizierten Fällen überleitet. In einigen jungen Oocyten fanden sich nämlich statt des einen mehrere blaue Nucleolen (Fig. 132*a*—*c*, Taf. VIII). In degenerierenden Zellen nimmt die Zahl dieser Nucleolarsubstanz noch mehr zu (Fig. 132*d*, Taf. VIII). Häufiger finden sich Oocyten mit zwei blau gefärbten Nucleolen (Fig. 132*e*, Taf. VIII)].

---

[1]) Ein derartiger Reaktionswechsel eines Nucleolus ist keineswegs selten [z. B. gibt ihn Obst 1899 (S. 181, Fig. 19—23, Taf. XII) für das *Limax*-Ei an]. Ebendort finden sich auch Angaben über gleichartige, riesige, centrale Vacuolen im Nucleolus der Spinneneier. Auch Böhmig (98) und Rhode (03) konstatierten verschiedentlich derartige Änderungen in der Farbenaffinität der Nucleolen. Die Einbuße der älteren Nucleolen an Basizität ist überhaupt eine ganz allgemeine Erscheinung, die ihrer Verdaulichkeit parallel geht. Im IV. Hauptteil (3. Allgemeiner Teil, Absatz 3) findet dieses Verhalten seine theoretische Würdigung.

Zusammenfassung: In den Keimbläschen des *Patella rota* (aus dem Roten Meer) finden sich zwei — ihrer färberischen Affinität nach verschiedene — Nucleolen. Gegen Ende des Eiwachstums büßt der eine von ihnen seine färberische Affinität ein. Zahlreiche kleine Nucleolen gleichen färberischen Verhaltens treten auf.

II. Patella tramoserica.

(Fig. 142—152, Taf. VIII.)

Eine weitere Komplikation findet sich bei dieser *Patella*-Species, die aus Australien stammt. Die beiden Nucleolarsubstanzen verschmelzen einmal zu einem einheitlichen Amphinucleolus. Zum andern findet gegen Ende der Wachstumsperiode ein Massenauftreten von kleinen Nucleolen beiderlei färberischer Reaktion statt.

In jungen Oocyten finden sich noch zwei getrennte, färberisch differente Nucleolen (Fig. 142, Taf. VIII), die aber schon hier zuweilen zu einem Amphinucleolus verschmelzen können. Dieser Amphinucleolus bleibt während des ganzen Eiwachstums erhalten (Fig. 142—152, Taf. VIII).

Während erst sein rot gefärbter Bestandteil enorm zunimmt (Fig. 144 bis 146, Taf. VIII), erreicht im weiteren Verlauf des Kernwachstums sein blauer Anteil ganz riesige Dimensionen (Fig. 147—152, Taf. VIII), so daß aus dem roten, oft gürtelförmigen Centrum (Fig. 149—152, Taf. VIII) zahlreiche, blaue, stark vacuolisierte Nucleolartropfen heraustreten.

Neben diesem Amphinucleolus treten schon in jungen Oocyten wenige blaue Nucleolen auf (Fig. 144—147, Taf. VIII), die sich weiterhin äußerst reichlich vermehren (Fig. 148—150) und unter reichlicher Vacuolisation beträchtlich heranwachsen. Neben diesen finden sich dann gegen Ende des Kernwachstums noch zahlreiche, rot gefärbte, kleine Nucleolen (Fig. 148—151, Taf. VIII). Ausnahmsweise können beiderlei neu entstandene Nucleolarmassen zu einem zweiten Amphinucleolus verschmelzen (Fig. 151, Taf. VIII).

Zusammenfassung: Neben dem Amphinucleolus treten gegen Ende des Kernwachstums zahlreiche blau und rot gefärbte Nucleolen auf.

III. Patella spec? (Roskoff).

(Fig. 153—177, Taf. IX.)

Während in den beiden bisher beschriebenen Fällen der in den jüngsten Oocyten vorhandene, rot gefärbte Nucleolus zu einer der beiden Komponenten des »Amphinucleolus« heranwächst, bleibt hier dieser

rot gefärbte »Primärnucleolus« während des Kernwachstums völlig allein. Seine nur beschränkte Größenzunahme läßt ihn ziemlich inaktiv erscheinen. Außer dieser Passivität ist er ausgezeichnet durch seine schwach rote Farbe, durch seinen nicht färbbaren Mantelsaum, durch Einlagerungen zahlreicher stark färbbarer Körnchen (z. B. Fig. 160 u. a., Taf. IX). In jungen Oocyten findet sich unser blaßroter Primärnucleolus von einem tief roten Saume umgeben (Fig. 153, Taf. IX). Dieser wächst allmählich heran (Fig. 154—156, Taf. IX). Hierbei konzentriert sich seine Substanz auf zahlreiche rot gefärbte Nucleolen, die allmählich zusammenfließen (Fig. 157—160, Taf. IX) und schließlich die roten Komponenten des Amphinucleolus bilden (Fig. 161 und folgende bis Fig. 177, Taf. IX).

Etwas später setzt die Bildung der blau gefärbten Komponente des Amphinucleolus ein. Man sieht anfangs eine blaue, kappenförmige Verdichtung (Fig. 157—162, Taf. IX), die sich allmählich immer intensiver bläut (Fig. 160 u. 161, Taf. IX) und schließlich mit der roten Komponente zu einem Amphinucleolus verschmilzt (Fig. 163 und alle folgenden).

War es für die bisher beschriebenen Species charakteristisch, daß die gegen das Wachstumsende auftretenden Nucleolen roter und blauer Affinität vereinzelt auftraten und auch einzeln — nach ihrer Farbaffinität getrennt — blieben, so ist es bei dieser Species anders. Es findet auch hier eine enorme Vermehrung der Nucleolarsubstanz statt, jedoch in einer specifischen Weise. Anfangs bilden sich große lappige Massen der blauen Nucleolarsubstanz (Fig. 166, 168 u. 174*a*, Taf. IX), die mit dem soeben gebildeten Amphinucleolus in Verbindung treten und ihm scheinbar noch Bildungsmaterial zuströmen lassen (Fig. 166, Taf. IX). Auf diesem blau gefärbten Substrat »schießen« nun zahlreiche rot gefärbte Nucleolen an. Diese interessante, auffällige Bildungsweise ist in einer großen Anzahl Figuren (168, 169, 172, 173, 174 u. 174*a*) illustriert. Gegen Ende des Wachstums können sich dann aus diesen pseudopodienartigen blauen Massen mit ihren aufsitzenden roten Nucleolen — weitere Amphinucleolen bilden (Fig. 170, 172, 174 u. 176). Es kann aber diese Bildung auch unterbleiben; dann nimmt der erste Amphinucleolus die enorme Größe der Fig. 175 und 177, Taf. IX, an.

Während dieser ganzen Vorgänge ist der oben geschilderte blaßrote »Primärnucleolus« als scheinbar völlig inaktiver Körper zu verfolgen. (Fig. 157—176, Taf. IX).

Zusammenfassung: Neben den beiden »amphinucleolären« Substanzen, die einen [von den beiden bisher beschriebenen Fällen] ab-

weichenden Wachstumsmodus aufweisen, ist dauernd eine dritte Art von Nucleolarsubstanz in Gestalt eines morphologisch, färberisch und funktionell ausgezeichneten »Primärnucleolus« vorhanden.

IV. Patella coffea.

(Fig. 178—189, Taf. X.)

Bei den beiden jetzt zu schildernden *Patella*-Species fällt die besonders große Volumzunahme der Nucleolarmassen in die Augen. Daneben weist die *Patella coffea* noch insofern eine neue Komplikation auf, als ihr anfänglich in Einzahl vorhandener »Primärnucleolus« (Fig. 178 bis 181, Taf. X) später in mehrere zerfallen kann (Fig. 183, 184, 186, Taf. X).

Schon in jungen Oocyten finden sich zahlreiche, der Kernmembran angelagerte Nucleolen (Fig. 179 u. 180, Taf. X), die allmählich heranwachsen. Bei Flächenansicht des Kernes erscheinen sie scheiben- (Fig. 181, Taf. X), im optischen Querschnitt spindelförmig (Fig. 182, 183, 185, Taf. X). In älteren Stadien sind diese blauen Randnucleolen mehrfach zipfelig ausgezogen (Fig. 184, Taf. X). Gegen Ende des Kernwachstums treten, wie überall, so auch hier neben dem Wachstum der blauen Nucleolarsubstanz (Fig. 186 u. 187, Taf. X) zahlreiche rot gefärbte Nucleolen auf, die sich als feinste Stäubchen anlegen. Beide Nucleolarmassen vereinigen sich dann zu zahlreichen Amphinucleolen, die in Fig. 187 und 189, Taf. X, von der Kernoberfläche, in Fig. 188, Taf. X, im Querschnitt zu sehen sind. (Ganz ähnliche Bilder fanden sich auch in den Eiern einer aus Rio de Janeiro stammenden *Patella.*)

Zusammenfassung: Die zuerst entstandenen großen Mengen blau gefärbter Nucleolarsubstanz vereinigen sich mit den später anschießenden roten Nucleolen zu randständigen Amphinucleolen. Der ursprünglich vorhandene einzige »Primärnucleolus« zerfällt in mehrere gleicher Art.

V. Patella coerulea. (Neapel.)

(Fig. 190—202, Taf. X.)

Ähnliche Verhältnisse finden sich mit kleinen Abweichungen auch bei dieser Species. Auch hier haben wir in jungen Oocyten einen roten Primärnucleolus, der aber als einziger seiner Art während des ganzen Wachstums zu verfolgen ist (Fig. 190—199, Taf. X). Daneben treten zahlreiche rot gefärbte Nucleolen auf (Fig. 191—194, Taf. X), die allmählich immer größer werden (Fig. 195, Taf. X) und sich schließlich zu — aus zwei Substanzen zusammengesetzten — Amphinucleolen

differenzieren (Fig. 196—199, Taf. X). Diese wachsen immer mehr an Größe und Zahl heran und können schließlich die enorme Massenentwicklung der Fig. 200, Taf. X (Oberflächenansicht), erreichen. Der Querschnitt des Kernes zeigt ihre Lagerung an der Kernmembran (Fig. 201, Taf. X). Eine zuweilen beobachtete einseitige Lagerung scheint mir anormal (Fig. 202, Taf. X).

Zusammenfassung: Im Gegensatz zu der unter IV beschriebenen Species tritt hier zuerst die rote Nucleolarsubstanz in großen Massen auf. Ihre Nucleolen differenzieren sich zu Amphinucleolen, die bei dieser *Patella coerulea* ihre zahlenmäßig größte Ausbildung erlangen. Ein Primärnucleolus ist dauernd vorhanden.

Das weitere Schicksal der Nucleolarsubstanz des *Patella*-Eies muß in allen fünf von mir untersuchten Fällen ungeklärt bleiben. Nach Obst (1899, S. 162) gehen die letzten Umbildungs- und Auflösungsstadien der Nucleolen außerordentlich rasch vor sich, so daß auch Obst die Klärung dieser Frage nicht gelang. Zur Lösung dieses interessanten Problems bedarf es des Aufenthaltes am Meere, zwecks der bei *Patella* ja durchführbaren künstlichen Befruchtung. Interessant wäre hierbei auch die Verfolgung des Nucleolenschicksals während der Furchung.

Die Chromosome.

Aus dem gleichen Grunde mußte die Frage nach der Entstehung der Reifechromosome ungeklärt bleiben. Während der ganzen langen Wachstumsperiode sind nämlich in allen von mir untersuchten *Patella*-Species keine individualisierten Chromosome nachzuweisen. In den jüngsten Oocytenstadien (je die Fig. 1—3 der fünf *Patella*-Species) findet sich immer ein deutliches Kernreticulum, in das die Chromosome der letzten Oogonienteilung eingegangen sind. Bei weiterem Oocytenwachstum verwischt es sich jedoch, so daß nur noch ein feinstes, gleichmäßiges Gerinnsel den Kern erfüllt, das zwar einem gerinnselig ausgefallenen Kernsaft, aber keinem Chromosomenreticulum ähnlich sieht.

Ich glaube aber, daß die Reifechromosome aus diesem Gerüstwerk entstehen und nicht aus den zahlreichen Nucleolen. Diese weisen nämlich alle eine feine, schaumige Struktur (in beiden Komponenten) auf (*Patella rota*, Fig. 141*a*; *Patella tramoserica*, Fig. 152; *Patella* Roskoff, Fig. 175 u. 177 usw.), die sie — allein schon morphologisch — zur Lieferung von Chromosomen ungeeignet erscheinen läßt[1]. Wir sind — so

---

[1]) Die Vacuolenbildung unsrer *Patella*-Nucleolen ist weit ausgesprochener als die bei andern Mollusken (vgl. z. B. die von Obst (99) beigebrachten Stadien).

glaube ich — zu der Annahme gezwungen, daß sich die Substanz der Chromosome (für uns bei *Patella* — im Gegensatz zu vielen andern Objekten — nicht nachweisbar) in dem Gerinnsel verteilt findet, aus dem sie sich vor den Reifeteilungen wieder herauskristallisiert. Ist doch dieses Gerüstwerk die Struktureinheit, die während der ganzen Oogenese erhalten bleibt und so die Kontinuität der zeitweise in den »Chromosomen« lokalisierten Erbeinheiten gewährleistet. (Das Weitere über diese Frage bei Jörgensen 1910*b*, S. 507ff.) Auch Obst (99) betont, daß bei seinen Objekten die Nucleolen nicht zur Ausbildung der Chromosome verwendet werden.

Da es sich hier um eine — hauptsächlich für Mollusken specifische — Amphinucleolarsubstanz handelt, die von den bisher beschriebenen, einheitlich gebauten Nucleolen der andern Tierstämme abweicht, so ist es wohl am Platze, die Ergebnisse bei den verschiedenen Patellen gesondert zusammen zu fassen.

Zusammenfassung.

Aus unsrer Untersuchung geht hervor, daß

1. die beiden Nucleolarsubstanzen getrennt nebeneinander bestehen können (*Patella rota*, Fig. 133—138, Taf. VIII), oder aber zu einem einheitlichen Amphinucleolus verschmelzen können (*Patella tramoserica*, Fig. 142—152, Taf. VIII).

2. Neben diesem in Einzahl vorhandenen Amphinucleolus können noch sehr zahlreiche weitere Nucleolen beiderlei Substanzen auftreten, die

a) entweder ihrer Substanz nach getrennt bleiben
Patella rota (Fig. 140, Taf. VIII),
Patella tramoserica (Fig. 150, Taf. VIII),

b) oder sich
α) geraume Zeit nach ihrer Entstehung
Patella coffea (Fig. 186—188, Taf. X),

β) oder sofort bei ihrem ersten Auftreten
Patella spec.?, Roskoff, (Fig. 165—172, Taf. IX),
Patella coerulea, Neapel, (Fig. 196—200, Taf. X),

zu mehr oder weniger zahlreichen »Amphinucleolen« vereinigen.

In den kompliziertesten Fällen (*Patella coffea* und *Patella coerulea*, Neapel) bilden sich »Amphinucleolen«, die nach Art der Fisch- und Amphibienrandnucleolen in großer Anzahl der Kernmembran anliegen, jedoch

mit dem Unterschied, daß jeder *Patella*-Randnucleolus aus zweierlei Nucleolarsubstanz besteht. — Die beiden Nucleolarsubstanzen unterscheiden sich weiterhin noch durch ihr verschiedenes Kohäsionsvermögen. Die blau gefärbte Substanz scheint durchgehend viel flüssiger zu sein als die rote (*Patella tramoserica*, Fig. 150—152, Taf. VIII; *Patella coffea*, Fig. 182—186, Taf. X).

3. Außerdem kann noch eine dritte Art von Nucleolarsubstanz vorhanden sein, die als »Primärnucleolus« bezeichnet wurde. Dieser zeichnet sich durch seine blaßrote Färbung, seine einheitliche Zusammensetzung, und seine Struktur (= ringförmigen Hof und feinste Einlagerungen = *Patella* Roskoff, Fig. 160, 165 u. a., Taf. IX) vor der übrigen Nucleolarsubstanz aus.

a) Er ist entweder in Einzahl vorhanden
(*Patella* Roskoff; *Patella* Neapel),

b) oder in Mehr- (bis Drei-)zahl
(*Patella coffea*).

Alle Nucleolen scheinen unter Aufnahme gelöster Stoffe zu wachsen. Eine Verschmelzung mehrerer kleiner zu wenigen größeren Nucleolen wurde nur in seltenen Fällen beobachtet (*Patella* Roskoff, Fig. 154—161, Taf. IX).

Bei Betrachtung dieser Kernstrukturen können wir — unter Beiseitelassen der Chromosomenkontinuität — folgende

Größere Gesichtspunkte

bezüglich der Amphinucleolarsubstanzen des *Patella*-Eies herausarbeiten. Im Verlauf der von uns beschriebenen Serie der Keimbläschenentwicklung von fünf verschiedenen *Patella*-Species läßt sich

1. eine allmähliche Steigerung und Komplikation feststellen in der Masse der Nucleolarsubstanz, die von dem (an Bekanntes anschließenden) Verhalten der *Patella rota* (Fig. 132—138, Taf. VIII) bis zu den Vorgängen bei *Patella coerulea*, Neapel, eine ganz enorme Zunahme erfährt.

Hierbei lassen sich gleichgerichtete Massenschwankungen in der chromosomalen (bzw. Kernsaft-) Substanz der verschiedenen *Patella*-Species nicht nachweisen. Betrachtet man aber die bisher bekannten Fälle mit ihrem (in Einzahl vorhandenen) Amphinucleolus oder ihren beiden einfachen Nucleolen, so findet man (z. B. bei den Obstschen Objekten) außer den Nucleolen noch große Mengen chromosomaler Substanzen im Kern. Eine zukünftige Untersuchung hat also darauf zu achten, ob sich Zusammenhänge ergeben zwischen der Masse der Nucleolarsubstanz einerseits und der Masse der chromosomalen Substanz andrerseits, der Art daß

entweder:

bei geringen Massen von Nucleolarsubstanz noch beträchtliche Massen von chromosomaler Substanz vorhanden sind (wie z. B. bei den Obstschen Objekten);

bei größeren Massen von Nucleolarsubstanz (z. B. *Patella*) die chromosomale Substanz immer mehr in den Hintergrund tritt.

[In diesem Falle würde die Nucleolarsubstanz vikariierend für die trophische Substanz der Chromosome eintreten.]

oder:

daß bei geringen Massen von Nucleolarsubstanz nur wenig chromosomale Substanz, bei großen Mengen von Nucleolarsubstanz aber viel chromosomale Substanz vorhanden sei.

[In diesem Fall würden beide Kernkomponenten in einem gewissen Abhängigkeitsverhältnis zueinander stehen und sich das Gleichgewicht halten.]

Im Abschnitt 1 des allgemeinen Teiles haben wir ausgeführt, daß sich ein derartiger Zusammenhang zwischen Nucleolarsubstanz einer- und chromosomaler Substanz anderseits bei unserm Material nicht auffinden läßt.

2. Für alle fünf *Patella*-Species ist die Zusammensetzung des Nucleolarapparates aus mindestens zwei, färberisch differenten Komponenten charakteristisch, wie ja für die meisten Mollusken.

Nach R. Hertwig (98) entstehen immer zuerst die Plastinnucleolen, die bei unsrer Reaktion — wie erwähnt — immer blau gefärbt sind. Die Chromatinnucleolen sollen durch Einlagerung von Chromatin in diese Plastinnucleolen gebildet werden:

Chromatinnucleolen = Plastinnucleolen + Chromatin.

Unsre Befunde sprechen nicht für diese, unterdessen von Popoff bestätigte Annahme.

1) In vielen Fällen ist die rotgefärbte chromatische Nucleolarsubstanz zuerst im Kern nachzuweisen, wenn überhaupt noch keine Plastinnucleolen gebildet sind (Fig. 132, Taf. VIII; Fig. 153—156, Taf. IX; Fig. 190—195, Taf. X).

2) In den meisten Fällen sind beide Nucleolarsubstanzen bei ihrem Auftreten völlig unabhängig voneinander. So entstehen bei *Patella rota* große Mengen von Chromatinnucleolen spontan (Fig. 139—141, Taf. VIII), ohne daß vorher an ihrer Stelle Plastinnucleolen nachweisbar wären.

3) In allen übrigen Fällen kann das Nebeneinanderbestehen beider Substanzen auf das deutlichste nachgewiesen werden. Wo Vereinigungen beider Substanzen zu »Amphinucleolen« vorkommen, handelt es sich um mechanische oder chemotaktische Aneinanderlagerung, die nichts mit der successiven Genese beider Substanzen zu tun hat.

4) Der Reaktionswechsel des Chromatinnucleolus von *Patella rota*, der gegen Ende des Wachstums seine starke basichromatische Affinität

einbüßt, kann nicht für die Annahme Hertwigs in Anspruch genommen werden.

Es ist eine allgemeine im Abschnitt 6 des allgemeinen Teils beschriebene Erscheinung, daß viele Chromatinnucleolen gegen Ende des Eiwachstums ihre Basizität wenigstens zum Teil einbüßen.

3. Wir haben weiterhin zuerst die Frage zu beantworten: welche von den beiden Nucleolarsubstanzen findet sich in den Keimflecken andrer Eier? Die Nucleolen mononucleolärer Eier und die Randnucleolen der Amphibieneier färben sich (nach der Zimmermannschen Methode) intensiv rot, wie die rot gefärbten Komponenten der Molluskenamphinucleolen. Wenn man also diese Färbung für zuverlässig hält, so müßten alle drei — in gleicher Weise gefärbten — Nucleolarsubstanzen identisch sein, und wären als »Chromatinnucleolen« im gewöhnlichen Sinne zu bezeichnen. Gegen diesen Schluß gibt es aber sehr gewichtige Einwände.

α) Die Unzuverlässigkeit der Chromatinfarben. Denn nicht allein chromatische Gebilde des Kernes färben sich mit »Chromatinfarben« chromatisch, sondern auch plasmatische Gebilde, z. B. Niederschlagsmembranen und ihre Derivate. So zeigt unsre Abbildung des *Piscicola*-Eies (Fig. 204, Taf. X) im Plasma intensiv rot gefärbte nucleolenartige Gebilde, die nicht etwa aus dem Kern ausgetretene Nucleolen sind, sondern Reste der von mir an andrer Stelle (Die Ei- und Nährzellen von *Piscicola*: Jörgensen 12) erwähnten Niederschlagsmembranen. Diese färben sich mit allen Chromatinfarben und auch mit dem Fuchsin in der Zimmermannschen Kombination.

β) Aber auch innerhalb des Kernes färben die Chromatinfarben — chemisch völlig verschiedene Gebilde — gleichartig. Wenn auch alle drei fraglichen Nucleolarsubstanzen des *Patella*-, des *Piscicola*- und des Amphibieneies sich gleichartig rot färben, so ist das noch kein Beweis für ihre Identität. Während nämlich der Nucleolus des *Piscicola*-Eies eine Nucleinsäurekomponente besitzt [er ist unverdaulich mit Pepsinsalzsäure, wie viele Nucleolen mononucleärer Eier], besitzen die Amphinucleolen der *Patella*-Eier und die Randnucleolen des Amphibienkeimbläschens keine Nucleinsäurekomponente [sie sind mit Pepsinsalzsäure leicht verdaulich]. Daher sind weder die gebräuchlichen Chromatinfarbstoffe noch unsre Zimmermannsche Methode geeignet, die verschiedenen Arten der Nucleolarsubstanzen zu identifizieren.

4. Während also viele Mollüskeneier zweierlei Nucleolarsubstanzen aufweisen, besitzen die Keimbläschen der meisten andern Tierklassen nur einheitlich gebaute Nucleolen. So ist in unserm Falle die blau

gefärbte Nucleolarsubstanz nicht in den Nucleolen andrer Eier vorhanden. Es wäre nun die Annahme zu prüfen, ob diese blaue — auf die Mollusken beschränkte — Nucleolarsubstanz bei andern Eiern auch vorhanden wäre und nur eine andre Anordnung besäße, z. B. auf den Lampenbürsten der Fisch- und Amphibieneier niedergeschlagen wäre. Tatsächlich steht dieser Vermutung, daß die blauen Nucleolarsubstanzen des *Patella*-Eies z. B. (Fig. 200, Taf. X) gewissen trophischen Bestandteilen der blau gefärbten Lampenbürsten (Fig. 203, Taf. X) entsprechen, nichts entgegen. Zur sicheren Entscheidung sind aber unsre färberischen Hilfsmittel nicht ausreichend. Immerhin wäre diese Frage in Zukunft zu beachten[1]).

Sollte sich in Eiern — mit einheitlich gebauten Nucleolen — keine äquivalente Substanz der (bei Mollusken vorhandenen) zweiten Nucleolenart finden, so wären die Amphinucleolen Anpassungen an bestimmte, nur den Mollusken eigne Stoffwechselvorgänge.

Aus unsrer Beschreibung der Nucleolarverhältnisse der — fünf verschiedenen Species angehörenden — *Patella*-Eier geht also, wie erwähnt, hervor, daß die Nucleolarsubstanz in der von uns beschriebenen Reihe eine ganz enorme Massenzunahme erfährt. *Patella rota* besitzt wenig, *Patella coerulea* besitzt sehr viel Nucleolarsubstanz. Nun ist es ja für viele Autoren eine stillschweigende Annahme, die z. B. von Häcker (99) auch eine allgemeine Fassung erfahren hat, daß die Eigröße und der Dottergehalt parallel zur Ausbildung des Nucleolarapparates geht.

Die kleinen, dotterarmen Echinodermeneier haben nur einen kleinen Nucleolus, die großen dotterreichen Wirbeltiereier haben polynucleoläre Zustände (z. B. die Fische, Amphibien u. a.).

1. Demnach gehörte unsre an erster Stelle geschilderte *Patella rota*, die im wesentlichen nur einen Amphinucleolus hat, zum Echinodermentypus (Häcker), und müßte infolgedessen kleine, dotterarme Eier haben.

2. Die an letzter Stelle abgehandelte *Patella coerulea* gehörte aber zum Wirbeltiertypus; hat sie doch zahlreiche Nucleolen, die wegen ihrer peripheren Lage ohne Bedenken als Randnucleolen zu bezeichnen sind.

Patella coerulea gehört aber weiterhin, wie auch die andern Patellen zum Häckerschen Lamellibranchiatentypus, denn sie hat ja, wie es für diesen Typus postuliert wird, die zweierlei Nucleolarsubstanzen.

In Anbetracht ihrer enormen Masse von Nucleolarsubstanz müssen ihre Eier nach der Häckerschen Annahme groß und dotterreich sein;

[1]) Die Dauer der Pepsinverdauung ist bei der blau gefärbten Amphinucleolarsubstanz von *Patella* und den blau gefärbten Lampenbürsten des Amphibieneies annähernd dieselbe (etwa 6—15 Minuten).

auf jeden Fall müssen sie größer und dotterreicher sein als die von *Patella rota*.

3. Die drei dazwischen liegenden Species, die eine allmähliche Massenzunahme der Nucleolarsubstanz zeigen, müssen die allmählichen Übergänge von den kleinen, dotterarmen Eiern von *Patella rota* bis zu den großen, dotterreichen Eiern der *Patella coerulea* bilden.

Studieren wir nun unsre fünf Species unter diesem Gesichtspunkte, so finden wir, daß die Annahme Häckers von der Parallelität zwischen Nucleolarsubstanz einer-, Eigröße und Dotterreichtum anderseits keine allgemeine Gültigkeit hat.

Denn unsre verschiedenen, mit zum Teil ganz extremen Massen von Nucleolarsubstanz begabten Eier haben die gleiche Zellgröße, den gleichen Dottergehalt, wie es am überzeugendsten wohl aus den auf Taf. XI dargestellten Umrißskizzen ersichtlich ist[1]). *Patella rota* mit ihrem einzigen Amphinucleolus hat die gleiche Eigröße wie *Patella coerulea* mit ihrer enormen Nucleolenmasse. Auch alle dazwischen liegenden Species mit vermittelnder Nucleolenmasse besitzen die gleiche einheitliche Zellgröße. Der Modus der Dotterbildung ist bei allen fünf Species der gleiche. In den Massenverhältnissen der beim Eiwachstum mitwirkenden Ergastoplasmen (Hauptteil II) konnte ebenfalls kein Unterschied festgestellt werden.

Wenn also die verschiedenen Nucleolenmassen nicht erklärlich sind durch die verschiedenen Zellgrößen und den verschiedenen Dottergehalt, welche Vorstellungen kann man sich denn sonst über das Zustandekommen ihrer Differenzen machen? Hierauf können wir keine befriedigende Antwort geben. Die morphologischen Befunde gestatten keine sichere Deutung. Es kann sich, wie wir das ja bei unserm Material überall gefunden haben, um die specifische Entwicklung bzw. Anpassung der Nucleolarsubstanz überhaupt handeln.

Wir können annehmen,

1. daß die verschiedenen *Patella*-Species auch verschiedene Eiweißarten besitzen; und daß diese bei unsern fünf Arten einen specifischen, jeweils etwas verschiedenen Stoffwechsel bedingen. Infolgedessen ist die Nucleolarsubstanz, die eine bestimmte, bei allen fünf Species gleichartige

---

[1]) Die rechts von den Umrißskizzen jeweils angebrachten Zahlen bezeichnen die Figuren der zugehörigen — auf Taf. VIII—X bei starker Vergrößerung gezeichneten — Kerne. Die geringen Differenzen zwischen den einzelnen Species sind individuelle Schwankungen, die sich zwar auf der Zeichnung ausdrücken, die aber bei Betrachtung einer größeren Zahl von Stadien sich verwischen.

Zusammensetzung und Funktion hat, verschiedenen Massen- und Strukturschwankungen ausgesetzt.

2. Oder aber wir können annehmen, daß sich die Nucleolarsubstanzen der fünf Species zwar mit den primitiven Färbungsmethoden als identisch ausweisen, daß sie aber bei den verschiedenen Arten von jeweils voneinander etwas verschiedenen Bausteinen aufgebaut werden.

Nach dieser Vermutung wäre also der Nucleolus von *Patella rota* etwas ganz andres als die Nucleolarsubstanz z. B. von *Patella coerulea*. Die beiden Nucleolarsubstanzen beiderlei Species wären ohne weiteres gar nicht miteinander zu vergleichen.

So ganz unwahrscheinlich ist mir persönlich diese Annahme gar nicht, besonders wenn wir an die große Specifizität und Volumschwankung der Nucleolarsubstanz bei andern nahe verwandten Formen denken. Ich erinnere hier nur an die schon öfter einander gegenübergestellten Formen wie:

Eutimium — *Obelia*,
Himentaria — *Scolopendra*,
Blatta — *Decticus*, *Gryllotalpa*, *Gryllus*,
Bdellostoma — Fische[1]).

3. Schließlich ist noch die Möglichkeit gegeben, daß es sich um lokale Milieuänderungen handelt. Es ist denkbar, daß sowohl der Stoffwechsel der Patellen wie ihre Nucleolarsubstanzen anfänglich identisch sind, daß aber der jeweilige Aufenthalt je nach seinen verschiedenen Ernährungsbedingungen, Salzgehalt, Ebbe — Flut usw. diese Differenz der Nucleolarsubstanz hervorgebracht hat. Solch lokale Beeinflussungen sind ja gar nicht selten. Ich erinnere nur an die Mittelmeer- und die Nordseelarven von *Polygordius*, die im Mittelmeer einen ganz andern Entwicklungsgang einschlagen als in der Nordsee, trotz kaum nachweisbarer Artunterschiede; oder an die Larvenformen von *Palaemonetes varians*, die eine artgleiche, aber dennoch verschiedene Entwicklung zeigen, je nachdem sie sich in Süß- oder Salzwasser entwickeln usw. (nach Maas 1911, S. 288).

Wir hätten dann bei *Patella* den Fall, daß sich lokale Milieuänderungen sogar schon im Leben einer einzigen Zelle bemerkbar machte. In diesem Falle müßte die Entwicklung der Nucleolarsubstanz auch experimentell

[1]) Auch die Verdauungsexperimente geben dieser Annahme recht. Hat es sich doch dabei herausgestellt, daß die gleichgefärbten Randnucleolen der Fische und Amphibien verschiedenen chemischen Aufbau besitzen.

(nach dem Vorgange von Herbst) beeinflußbar sein. Leider habe ich bisher weder Zeit noch Gelegenheit zu diesen gewiß interessanten Experimenten gehabt. (Weiteres siehe Allgemeiner Teil, Abschnitt 3, e, S. 99.)

IV. Hauptteil. 1.

Anhang.

Verdauungsversuche.

(Taf. XII.)

Aus unsrer morphologischen Betrachtung ergab sich eine große, specifische Beschaffenheit der Nucleolarsubstanz — selbst bei nahe verwandten Formen. Wenn wir nun nicht annehmen wollen, daß der ganze Stoffwechsel bei nahe verwandten Tieren ein ganz verschiedener ist, und daß dadurch die verschiedene Massenentwicklung der an sich immer identischen Nucleolarsubstanz bedingt ist, so müssen wir wohl annehmen, daß die verschiedene, specifische Ausbildung der Nucleolarsubstanz dadurch bedingt ist, *daß sie jeweils eine andre chemische Zusammensetzung aufweist, so daß die Nucleolen verschiedener Tiere überhaupt nicht miteinander vergleichbar wären*, wie wir das schon bei der Besprechung der Patellennucleolen erörtert haben. Es lag mir nun daran, diese durch morphologische Vergleiche angeregte Vermutung auch durch physiologische Experimente zu stützen. Leider drängen mich äußere Umstände zum Abschluß, so daß diese Versuche, die ziemlich zeitraubend sind, nicht über das Anfangsstadium hinausgekommen sind; besonders auch deswegen, weil ich versäumt hatte, mir von dem zahlreichen Material Alkoholvorräte zu halten. Nur an in Alkohol fixierten Objekten können ja einwandfreie chemische Untersuchungen angestellt werden (Encyklopädie der mikrosk. Techn. 1910, Bd. II, S. 570 ff. und Nemec 10, S. 297 u. 298).

Von den beabsichtigten Untersuchungen über das Verhalten der Nucleolarsubstanz gegenüber verschiedenen Verdauungsfermenten,

beim Phosphornachweis (Reservesubstanz!),
beim Eisennachweis (Oxydationscentra!),

bei verschiedenen Salzhungerarten von *Patella*-Eiern wurden nur die Verdauungsexperimente mit Pepsinsalzsäure begonnen. Wenn ich diese Versuche hiermit als Anhang veröffentliche — obwohl sie nur an einer geringen Anzahl Formen angestellt wurden — so geschieht es deswegen, weil sie

1. einmal recht aussichtsreiche Einblicke in das Zelleben des wachsenden Eies gewähren und weil sie

2. in erfreulicher Übereinstimmung stehen zu Angaben, die ganz neuerdings bei gleichgerichteten Versuchen gemacht wurden.

Über die

Technik der Pepsinverdauung

ist nicht viel zu sagen.

Die in Alkohol fixierten Objekte wurden in 7 oder 10 μ dicke Schnitte zerlegt und mit Wasser aufgeklebt. Die Objektträger wurden dann durch Xylol, Alkohol usw. in Wasser verbracht. Dann wurde ein großes Deckgläschen mit Wachsfüßchen aufgesetzt und wenn die betr. Stelle unter dem Mikroskop aufgesucht war, seitlich Pepsinlösung zugesetzt. Zur Vermeidung der Verdunstung wurde das Deckgläschen mit Wachs umrandet. Bei einiger Übung geht das ganz gut auch unter dem Mikroskop. Verdaut wurde bei Zimmertemperatur oder im Lautenschlägerschen Brutschrank bei 37° C. In allen Fällen konnte die Auflösung der betreffenden Strukturen Schritt für Schritt unter dem Mikroskop bei Objektiv 8, ja sogar mit der 2 mm-Immersion verfolgt und mit dem Zeichenapparat festgehalten werden. — Manchmal verschwinden die Randnucleolen (z. B. bei *Salamandra*) im Moment des Pepsinzusatzes. Sie haben dasselbe Brechungsvermögen wie die Pepsinlösung. Nach Zusatz von Wasser treten sie dann aber wieder auf. Auch hier gelingt es in allen Fällen — durch Zusatz von Wasser in Intervallen von Minute zu Minute — das allmähliche Schwinden der Nucleolarsubstanz einwandfrei sicherzustellen.

Immerhin nehmen die Versuche nicht unbeträchtliche Zeit in Anspruch, da zur vollen Sicherheit eine mehrmalige Wiederholung erwünscht ist und meist in jedem Falle ganz specifische Schwierigkeiten überwunden werden müssen. Untersucht wurden: *Piscicola* (Wurm); *Patella* (Mollusk); *Astacus* (Crustacee); *Tinca* und *Leuciscus* (Fisch); und *Salamandra mac.* (Amphibium).

Das Eiplasma,

das bei fünf Formen stark basichromatisch gefärbte, ergastoplasmatische Substanzen aufweist, ist selbst nach 48stündiger Pepsineinwirkung unverdaulich (siehe Fig. 1—6, *a—d* für *Patella*; Fig. 1 für *Piscicola*; Fig. 2—5, Taf. XII, für *Tinca* und *Leuciscus*). Bei *Astacus* war das Plasma jugendlicher Ovocyten unverdaulich; das Plasma älterer Eier wurde dagegen binnen kurzem so schnell und vollständig verdaut, daß von der ganzen Zelle nichts übrig blieb.

Das basichromatische Plasma des Salamander-Eies war wie die obigen Objekte unverdaulich (Fig. 9, Taf. XII); die Deutoplasmamassen wurde dagegen schnell aufgelöst.

Diese Unverdaulichkeit der basischen Plasmaarten macht es wahrscheinlich, daß größere Mengen von Nucleinsäure in den betreffenden Eiplasmen suspendiert sind.

Auch ZACHARIAS (10, S. 223) fand, daß sich das Zellplasma, von dem aber nicht angegeben wird, ob es basichromatische Ergastoplasmen enthielt oder nicht, nicht verdaute.

Die Chromosome des wachsenden Eikernes.

Wie schon verschiedentlich erwähnt, blieben die basichromatischen Chromosome der Mitosen und die der Bukettstadien, Fig. 8, Taf. IV, vollkommen unverdaut, wie das auch ZACHARIAS (10, S. 226) NEMEC (10) u. a. gefunden haben.

Dagegen wurden die oxychromatischen Chromosome nach dem Bukettstadium bei allen sechs untersuchten Formen binnen kürzester Zeit (6—10′ bei Zimmertemperatur) aufgelöst. Hierbei schwand mit den Chromosomen immer das gesamte Kernsafteiweiß (Kerngrundsubstanz).

Diese Tatsache, die für wachsende Eikerne ganz allgemein zu sein scheint, ist von Bedeutung, denn sie zeigt, daß die Chromosome während des Eiwachstums keine Nucleinsäure mehr enthalten. Sie enthalten Nucleinsäurekomponenten auch nicht in fein verteilter Form — etwa auf einer Plastin- oder Plastin- + Nucleolarsubstanzunterlage (HERTWIG 02). Denn bei dauernd mit der 2 mm-Immersion kontrollierten Verdauungsversuchen blieben keine Spuren der Chromosome zurück.

Die Verdauungszeit war für alle sechs Objekte annähernd die gleiche und betrug ungefähr 6—10′.

Diese Verdauungsversuche bestätigen demnach unsre färberischen Angaben. Die Chromosome des wachsenden Keimbläschens stehen nicht nur im färberischen, sondern auch im chemischen Gegensatz zu den Chromosomen der Mitosen und verhalten sich zum Teil auch abweichend von der chromosomalen Substanz des Ruhekernes.

Nach ZACHARIAS (10, S. 237) »bestehen die Chromosome im ganzen genommen ebenso wie die Chromatinkörper des Ruhekernes in allen untersuchten Fällen zu einem wesentlichen Teil ihrer Masse aus einer Substanz mit den Reaktionen des Kernnucleins«, d. h. sie sind unter anderm in Pepsin unverdaulich.

Hiervon machen aber nach unsern Versuchen die Chromosome des wachsenden Eies eine bemerkenswerte Ausnahme, indem bei ihnen noch nicht einmal Spuren von Nucleinsäurekomponenten nachzuweisen sind (siehe auch STAUFFACHER 11, S. 518). — Das umgekehrte auffallende Verhalten, das der färberischen Reaktion parallel geht, zeigen

die Nucleolen des wachsenden Eikernes.

1. Den einfachsten Fall finden wir beim mononucleolären *Piscicola*-Ei (Fig. 1, Taf. XII). Selbst bei 48stündiger Pepsineinwirkung bei 37° C bleibt der Nucleolus im wesentlichen unverdaut. Ob aber dabei nicht doch gewisse Substanzen aus dem Nucleolus herausgedaut werden, läßt sich schwer entscheiden. Jedenfalls behält der Nucleolus sowohl der Ei- wie der Nährzellen seine basische Farbenreaktion bei.

2. Kompliziertere Verhältnisse fanden sich nun bei der amphinucleolären *Patella*, von denen ich leider nur die *P. coerulea* aus Neapel untersuchen konnte[1]).

Die verschiedenen Etappen der Nucleolenauflösung sind auf Taf. XII in den Fig. 1—6 (*a*—*d*) dargestellt. [In der horizontalen Reihe befinden sich immer je vier ihrem Alter nach verschiedene Eier. Die senkrecht angeordneten Figuren zeigen die verschiedenen Grade der Verdauung nach den links angegebenen Zeitintervallen.] In der Fig. 1 (*a*—*d*), die nach in Wasser liegendem Objekt gezeichnet ist, sind sehr schön Kernreticulum und die wandständigen Nucleolen zu sehen.

Nach Zusatz von Pepsinsalzsäure war wie überall das Chromatinreticulum bereits nach 10—15′ verschwunden. Wie Fig. 2 (*a*—*d*) zeigt, waren nach dieser Zeit alle Nucleolen sehr stark gequollen. Schon jetzt machte sich ein beträchtlicher Unterschied zwischen jungen und älteren Eikernen bemerkbar, insofern als zahlreiche Nucleolen des als 2 *d* bezeichneten Stadiums schon fast aufgelöst waren. Einige waren wasserhelle Nucleolenschatten geworden; von andern war der plastin!-haltige Teil schon verschwunden und nur der chromatische! Anteil war noch — in Gestalt eines Halbmondes — vorhanden.

Diese Auflösungsstadien fanden sich in jüngeren Eikernen erst nach 40—50′ (Fig. 3 *a*, *b*, *c*); nach welcher Zeit in den größeren Kernen schon die meisten Nucleolen verschwunden waren (Fig. 3 *d*). Sogar die großen Nucleolen befanden sich hier in Auflösung, indem ihre Randpartien abschmolzen (Fig. 3 *d*, links).

Nach 60—70′ war ungefähr in allen Eikernen der größte Teil der Nucleolen halbmondförmig (Fig. 4 *b*—*d*), um im Verlauf der nächsten Stunden an Zahl abzunehmen und schließlich — unter Zurücklassung weniger gerinnseliger Massen — zu verschwinden (Fig. 6 *c* u. 5 *d*). Nur in den kleinsten Kernen (Fig. 4 u. 5, *a* u. *b*) war die chromatische Nu-

[1]) Von den übrigen *Patella*-Species war versäumt worden, Alkoholmaterial einzulegen. Das Sammlungsmaterial war — wegen seines hohen Alters (1882) wahrscheinlich — unverdaulich.

cleolarkomponente viel resistenter. Sie blieb in diesen Kernen selbst bei 48stündiger Einwirkung unverdaulich (Fig. 6 *a* u. *b*).

Hieraus lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

a) Die chromatischen Nucleolen erleiden während des Kernwachstums Substanzänderungen. Diese drücken sich nicht nur — wie erwähnt — in einem Abklingen ihrer Basophilie aus, sondern werden auch bemerkbar durch die Herabsetzung ihrer Widerstandskraft gegenüber Pepsinsalzsäure.

Die stark basichromatischen Nucleolen junger Eier sind in Pepsin viel schwerer verdaulich als die weniger basophilen Nucleolen älterer Eier.

Die Nucleolen junger Eier enthalten demnach viel Nucleinsäure, die die älterer Eier eingebüßt zu haben scheinen. [Vielleicht sind die bei der Verdauung älterer Nucleolen zurückbleibenden gerinnseligen Reste als — ihrer Unterlage beraubte — Nucleinsäurekomponenten aufzufassen.]

b) Die Plastinnucleolen (auch echte Nucleolen genannt) verdauen sich bei *Patella* viel schneller als die Chromatin!-Nucleolen. Da bei ihrer Verdauung kein Rückstand übrig bleibt, scheinen sie überhaupt keine Nucleinsäure zu besitzen. Hierauf weist auch ihre schwächere Nuance bei Chromatintingierung hin.

In älteren Kernen (Fig. 6 *c*—*d*) bleiben demnach weder Chromosome noch Nucleolen übrig. Der Kern enthält auf diesen Stadien demnach überhaupt keine Nucleinsäureverbindung. Dieser interessante Befund wird auch durch die weiteren Versuche und die Angaben andrer Autoren bestätigt.

3. Die Nucleolen der jüngsten wie der ältesten *Astacus*-Eier waren unverdaulich. Leider konnte ich nicht feststellen, ob die Nucleolen nach der Verdauung noch chromatisch färbbar waren. Da von älteren Eiern überhaupt nur die Nucleolen bei der Verdauung übrig blieben, schwammen diese bei der Präparation natürlich sofort vom Objektträger.

4.—6. Die drei untersuchten Formen mit Randnucleolen (*Tinca*, *Leuciscus* — *Salamandra*) betrachten wir gemeinsam. Die Nucleolen aller drei Objekte sind stark basophil und verhalten sich färberisch vollkommen gleichartig.

Dagegen lassen die Verdauungsexperimente der drei — vollkommen gleichmäßig und einheitlich behandelten — Formen bedeutende chemische Differenzen erkennen.

a) Am schnellsten verdauen sich die Randnucleolen von *Salamandra mac.* (in mittelgroßen Eiern nach 9′), die ohne Hinterlassung von Resten aufgelöst werden (Fig. 7—9, Taf. XII).

b) Viel resistenter waren schon die Randnucleolen von *Leuciscus* (Fig. 4—6, Taf. XII). Sie waren nach 5′ stark verquollen; nach 15′ fingen sie an zu schrumpfen. Nach 2—3 Stunden waren sie zum Teil noch gut sichtbar, jedoch besonders in älteren Eiern an Größe und Zahl zusammengeschmolzen. An gefärbten Präparaten fanden sich nach 3stündiger Verdauung noch Nucleolenreste, die aber keinen Kernfarbstoff mehr annahmen (Fig. 6, Taf. XII).

Die meisten Eier wiesen nach dieser Zeit keine Nucleolen mehr auf (Fig. 4 u. 5, Taf. XII).

Die Nucleolen jüngerer Eier schienen resistenter.

c) Am widerstandsfähigsten waren die Randnucleolen von *Tinca* (Schleie). Wenn sie auch bei lang dauernder Einwirkung des Pepsins an Substanz verloren (vgl. Textfig. 8, S. 27 mit Fig. 2—3, Taf. XII), so blieben sie doch sowohl in jüngeren, wie in älteren Eiern — selbst bei 48stündiger Verdauung erhalten und färbten sich darnach noch intensiver mit Safranin (Fig. 2—3, Taf. XII).

Die Nucleolarsubstanz jugendlicher Eier hatte überhaupt nicht abgenommen.

Es ergab sich daher für die drei Formen folgendes Resultat: Die Nucleolarsubstanzen aller drei Objekte büßten im Laufe der Verdauung mehr oder weniger an Masse ein. Die Geschwindigkeit dieser Substanzeinbuße aber und die Masse des verloren Gegangenen war in allen drei Fällen verschieden groß. Hieraus kann man wohl mit Recht auf eine verschiedene chemische Konstitution der — färberisch vollkommen gleichen — Randnucleolen unsrer Objekte schließen.

Zusammenfassung.

1. Das basichromatische Eiplasma mit seinen Ergastoplasmen ist unverdaulich, enthält demnach wahrscheinlich Nucleinsäure.

2. Die basichromatischen Chromosome der Mitosen und des Buketts sind unverdaulich; die oxychromatischen der Wachstumsperiode sind in kürzester Zeit verdaulich. Sie enthalten demnach gar keine Nucleinsäurekomponente, auch nicht in Spuren.

3. Die basichromatischen, vollkommen gleichartig gefärbten Nucleolarsubstanzen verschiedener Species und Tierstämme verhalten sich verschieden.

Die Nucleolen von

a) *Piscicola* und *Astacus* sind unverdaulich und behalten, soweit untersucht, ihre Affinität zu Kernfarbstoffen bei.

b) *Patella* sind in jugendlichen Stadien unverdaulich, später verdaulich. Die Plastinkomponenten der Amphinucleolen lösen sich restlos und schneller als die chromatischen Anteile.

c) Die drei untersuchten Formen der basichromatischen Randnucleolen zeigen eine prinzipielle Übereinstimmung darin, daß ihre Nucleolarsubstanzen während der Verdauung an Masse abnehmen.

Dabei waren aber sehr große graduelle Unterschiede festzustellen. Diese lassen darauf schließen, daß die Nucleolen dieser drei Formen trotz ihrer gleichartigen Färbung verschiedenen chemischen Aufbau besitzen.

Überall waren die jüngeren Einucleolen widerstandsfähiger als die älteren.

Die basichromatischen Nucleolen zerfallen demnach in

dauernd unverdauliche (*Piscicola*, *Astacus*) *Tinca*.	anfangs unverdauliche, später verdauliche (*Patella*, *Leuciscus*).	sofort verdauliche (*Salamandra*).

Dieser Befund zeigt am besten die große Unzuverlässigkeit unsrer Chromatinfarben, die nicht etwa als ein Reagens auf eine Nucleinsäureverbindung (= Chromatin) aufzufassen sind, sondern ein Gruppenreagens bilden, das alle Körper, die nur gewisse Gruppen enthalten — im übrigen aber beliebig verschieden sein können, — »chromatisch« färbt. Ich bin sogar überzeugt, daß eine distinkte chromatische Färbung unter Umständen allein schon durch physikalische Dichte hervorgerufen werden kann; was z. B. die stark basichromatischen Niederschlagsmembranen im *Piscicola*-Ei auf das schlagendste beweisen (Jörgensen 12).

Unsre besondere Aufmerksamkeit wollen wir ferner noch auf folgende Tatsachen richten.

1. Es ergibt sich nicht nur eine färberische, sondern auch eine chemische Differenz zwischen der chromosomalen Substanz einer- der Nucleolarsubstanz anderseits. Im wachsenden Ei sind die Chromosome viel schneller verdaulich als die Nucleolen, die — sei es bei verschiedenen Tieren, sei es in verschiedenen Entwicklungsstadien — viel resistenter sind.

2. Weiterhin verhalten sich die Komponenten des Eikernes (Chromosome und Nucleolen) — nach unserm Gesetz der Reaktionssumkehr (Hauptteil III) — genau entgegengesetzt wie die des Ruhekernes.

Der gleiche Gegensatz macht sich auch bei den Verdauungsversuchen bemerkbar.

a) In ruhenden Zellen bestehen nach ZACHARIAS (10, S. 237) die Chromatinkörper des Ruhekernes, wie die Chromosome zu einem wesentlichen Teil ihrer Masse aus einer Substanz mit den Reaktionen des Kernnucleins; d. h. sie sind in Pepsin unverdaulich.

Im wachsenden Eikern verhalten sich die Chromosome gerade umgekehrt. Sie sind sofort verdaulich und enthalten nicht einmal Spuren von Kernnuclein.

b) In ruhenden Kernen sind nach ZACHARIAS (10, S. 240) die Nucleolen (sowohl in frischem wie im Alkoholmaterial) in kurzer Zeit verdaulich. Es war in ihnen keine Spur von Kernnuclein zu erkennen.

Im wachsenden Eikern besitzen aber die Nucleolen — je nach den verschiedenen Tieren und je nach den verschiedenen Altersstufen — mehr oder weniger Nucleinsäure. Sie sind deshalb auch viel resistenter gegen Pepsin als ihre Chromosome.

Immer aber verhält sich die Nucleolarsubstanz entgegengesetzt zur chromosomalen Substanz, sowohl bei Eizellen wie bei ruhenden Zellen, bei denen sich nach ZACHARIAS (10) und NEMEC (10) beide durch ihre Reaktionen aufs schärfste voneinander scheiden, so daß es einfach unmöglich ist, daß nucleoläre Substanz in die Chromosome hineinfließt, wie das auch bei den Botanikern von MOLL, MITZKEWITSCH und BERGHS behauptet wurde.

3. Die Nucleolarsubstanz kann nun während der Entwicklung eines und desselben Eies ihr Verhalten gegenüber Pepsinsalzsäure ändern. Junge Nucleolen von *Patella* und *Tinca* sind überhaupt unverdaulich, ältere Nucleolen werden leichter verdaulich. Die Nucleolen junger Oocyten enthalten demnach viel Kernnuclein; während des Eiwachstums büßen sie aber ihren Nucleingehalt ein.

Dies zeigt sich nicht nur in der Abnahme ihrer Basizität, sondern auch in der erwähnten — während ihrer Entwicklung abnehmenden Resistenz gegenüber Pepsinsalzsäure, die auch STAUFFACHER (11, S. 518) beim *Anodonta*-Keimbläschen feststellen konnte.

Wenn wir daher als Charakteristicum des »Chromatins« — außer seiner Färbbarkeit mit Kernfarbstoffen — seinen Gehalt an unverdaulichem Kernnuclein ansehen, so enthält der Kern vieler Eier (z. B. *Patella*, *Leuciscus*, *Salamandra*) auf älteren Wachstumsstadien überhaupt gar kein Kernnuclein und damit überhaupt kein Chromatin mehr.

Dieses wichtige Ergebnis steht in erfreulichem Einklang mit den neuesten Publikationen von ZACHARIAS (10) und STAUFFACHER (11). Nach letzterem Autor wurde »im Kern des ausgewachsenen *Anodonta*-Eies kein Nuclein mit Sicherheit gefunden, während es im Kern der

Ureier leicht und in relativ bedeutenden Mengen nachgewiesen werden konnte. Nucleolus und Kern erschöpfen sich an Nuclein (im Nucleolus kann dies direkt verfolgt werden)«. — Den Reaktionsumschlag der Chromosome und Nucleolen, sowie den Moment der Verdaulichkeit der Chromosome hat STAUFFACHER nicht festgestellt. —

Auch nach den Untersuchungen von ZACHARIAS (10, S. 252) am *Unio*- und Froschei besteht die Hauptmasse des Eikernes in einer in Pepsin löslichen Substanz, die nur sehr wenig Kernnuclein enthält. Die Massenzunahme des Eikernes beruht hauptsächlich in einer Zunahme des verdaulichen Eiweißes, während das Nuclein nicht zunimmt. — Diesen Mangel an Kernnuclein bringt nun STAUFFACHER mit der Beendigung des Eiwachstums in Zusammenhang.

»Das reife Ei von *Anodonta* stellt sein weiteres Wachstum deshalb ein, weil ihm das zu vegetativen Prozessen unentbehrliche Nuclein mangelt.« »Reif« sein wäre demnach für das Ei gleichbedeutend mit dem Verlust einer bestimmten Substanz (des Nucleins) und der diese begleitenden Energie. Denn nach STAUFFACHER (S. 520) »beherrscht das Nuclein die Prozesse des Wachstums und des Stoffwechsels; und die Regsamkeit des Wachstums und des Stoffwechsels ist direkt proportional der Menge des vorhandenen Nucleins.«

Daß die Nucleinsäure beim Eiwachstum eine Rolle spielt, ist wohl sicher, denn warum brauchte sie sich denn sonst auf. Die große Bedeutung, die ihr STAUFFACHER, etwas einseitig, zuschreibt, schießt aber wohl etwas über das Ziel hinaus. Wir müssen sicherlich auch noch andre Faktoren als beim Eiwachstum mitspielend betrachten. Ich erinnere nur an folgende Tatsachen:

a) Die Chromosome des Keimbläschens sind besonders beim »nucleären« Wachstumstyp ganz sicher beim Eiwachstum beteiligt; denn was hätte sonst ihre enorme Massenentwicklung, ihre fabelhafte Oberflächenvergrößerung in den Lampenbürsten für einen Zweck. Und doch sind in ihnen nicht einmal Spuren von Kernnuclein nachzuweisen. Sie verdauen sich restlos.

b) Es gibt weiterhin viele Eier, deren Kern klein und nucleinarm ist, deren Plasma keine nucleinhaltigen Ergastoplasmen enthält, wo daher das ganze Ei nur winzige Mengen von Nucleinsäure enthält (z. B. das *Astacus*-Ei); und doch wächst ein solches Ei ganz enorm heran — durch die Tätigkeit seiner Follikel bzw. Nährzellen.

Warum diese aber gegen Ende des Wachstums ihre Tätigkeit einstellen, wissen wir nicht. Sicher aber nicht aus Mangel an Nuclein, denn sie sind — wenigstens bei *Astacus* — noch stark basichromatisch färbbar

und völlig unverdaulich, enthalten also noch beträchtliche Mengen von Nucleinen.

Immerhin steht soviel fest, daß der Nucleinsäuregehalt

α) sowohl des Kernes (zuerst seiner Chromosome, dann seiner Nucleolen),

β) wie des Plasmas (soweit es ergastoplasmatische Substanzen enthält, die bei der Dotterbildung verbraucht werden) erschöpft wird, und daß deshalb der Nucleinmangel des Eies wohl mit ein Grund ist für die Sistierung des Riesenwachstums des Eies.

IV. Hauptteil. 2.

Literaturbesprechung.

Es liegt nicht in meiner Absicht, eine lückenlose Zusammenstellung der Arbeiten zu geben, die sich jeweils mit den Nucleolarsubstanzen beschäftigt haben. Diese Zusammenstellung würde ein eigne, Jahre lang dauernde Arbeit sein, deren Ergebnisse wohl kaum die aufgewendete Mühe lohnen würden. Ich kann hier auf die unten referierte, allerdings schon etwas ältere, große Arbeit von Montgomery verweisen, der die ganze Literatur bis zum Jahre 1898 zusammengestellt hat. Ich beschränke mich hier nur auf wenige Hauptarbeiten.

Flemming (82) hält die Nucleolen für Kernorganellen, die entweder Speicher- oder Reservestoffdepots von Chromatin sind oder als eine chemische Modifikation, Vorstufe oder Doppelverbindung des Chromatins aufzufassen sind.

Zacharias (85) hält sie auch für Kernorgane, widerspricht aber Flemming darin, daß sie Reservemassen von Chromatin sind.

Korschelt (89) hält sie für Niederlagen nutritiver Substanzen, die in und vielleicht auch außerhalb des Kernes zur Verwendung gebracht werden können.

Auch Rhumbler (93) hält die Binnenkörper für Reservestoffe des Kernes, die bei seinem Wachstum verbraucht werden und ein Nährmaterial für die Chromosome bilden. Sie sind als eine Art unorganisierten Dottermaterials keine Organe, sondern Secretionsprodukte des Kernes.

Häcker (93) fand bei *Echinus*, daß die große Vacuole des Nucleolus kontraktil sei, er vergleicht sie direkt mit der kontraktilen Vacuole der Infusorien. In einer weiteren Arbeit (95) hält er die Nebennucleolen — zu denen er sämtliche Nucleolen der Eier der niederen Wirbeltiere, Fische, Amphibien rechnet — für Secretionsprodukte der chromatischen Elemente, dazu bestimmt, aus dem Kern auszutreten.

Auf diese Ansicht werde ich noch im allgemeinen Teil, Abschnitt 6, näher eingehen.

Born (94) findet in seiner grundlegenden Arbeit, daß die Nucleolen nur in Beziehung zum individuellen Zellenleben und nicht zur Fortpflanzung stehen.

Strasburger und seine Schule weisen auf Beziehungen zwischen den Nucleolen und den Spindelfasern hin. Auch nach Nemec (10) ist es nicht undenkbar, daß die Nucleolen Substanzen aufnehmen können, welche durch Umwandlung von Spindelsubstanz entstehen — und umgekehrt. Für unsre Einucleolen kommt wohl diese Auffassung nicht in Betracht.

Nach List (97), der Lamellibranchiateneier mit Amphinucleolarsubstanzen untersuchte, gibt es kein sicheres Färbemittel, das scharf darauf hinwiese, daß wirklich zwei

verschiedene Nucleolarsubstanzen vorhanden sind. Durch Zusatz von Blutlaugensalz und Salzsäure gelang es ihm, in der Nebennucleolarsubstanz (FLEMMINGS) Eisen nachzuweisen. Auch die Nucleolen von Ovarialeiern von *Pristiurus* und die Nebennucleolarsubstanz von *Sphärechinus* waren eisenhaltig, ebenso die Nucleolen mancher Gewebszellen.

Ich selbst habe die LISTsche erste Methode mit positivem Erfolg bei den *Proteus*-Randnucleolen und den »Plastin«-nucleolen von *Patella* ausgeführt. Um sich aber ein allgemeines Urteil über den Eisengehalt der Nucleolarsubstanz und seine eventuelle oxydative Bedeutung bilden zu können, bedarf es auch hier der Untersuchung einer großen Anzahl — entwicklungsgeschichtlich geprüfter — Objekte, die ich mir auf die nächste Mitteilung versparen möchte.

Nach R. HERTWIG (1898 a u. b) soll sich

1. das bei der Auflösung der Nucleolen (vor der Zellteilung) freiwerdende Material mit den Chromosomen vereinigen. »Zugleich bin ich aber der Ansicht, daß dabei eine in den Chromosomen an und für sich schon vorhandene, den Zusammenhalt der Chromatinkörner bedingende Grundsubstanz noch eine Vermehrung erfährt. — Ich habe daher die Nucleolarmassen einem Kitt verglichen usw.« »Wenn die Nucleolen sich bei ihrer Auflösung mit den Chromosomen verbinden, so müßten sie, wenn sie neu auftreten, aus ihnen bzw. aus dem Chromatin hervorgehen.« Diese Frage habe ich selbst nicht untersucht; ich verweise hier auf die weiter unten referierten Angaben von NEMEC (10).

2. Bei *Actinosphärium* liefert der Nucleolus (Karyosom) die Chromosome. Diese Ansicht der nucleolären Entstehung der Chromosome wurde von einer Anzahl Autoren: HARTMANN (02), GOLDSCHMIDT (02), GÜNTHER (04) u. a. auf mononucleoläre Eier der Metazoen angewendet.

3. Mit O. HERTWIG und CARNOY unterscheidet R. HERTWIG echte Nucleolen oder Plastinnucleolen und chromatische Nucleolen oder Chromatinkörper. HERTWIG denkt sich die Entstehung der Chromatinnucleolen so, daß auf eine Plastingrundsubstanz als Unterlage Chromatin abgelagert werde. Die Chromatinnucleolen sind also »Plastinnucleoli + Chromatin«. »Je mehr erstere Chromatin aufstapeln, um so mehr nehmen sie die Charaktere der letzteren an und umgekehrt; je mehr letztere Chromatin abgeben, um so mehr werden sie ersteren ähnlich.« Diese Auffassung konnte POPOFF (07) bei *Paludina* bestätigen. CARNOY hält dagegen die Chromatin- und Plastinnucleolen für durchaus verschieden. Auch MONTGOMERY (siehe folgendes Referat) ist der Ansicht, daß die Paranucleolen (= basichromatische oder »Chromatin«-Nucleolen) keine Derivate der Haupt- oder »Plastin«-nucleolen sind, sondern Produkte sui generis. Hier ist die Möglichkeit gegeben, daß es — bei der großen Specifizität der Nucleolarsubstanz — bei verschiedenen Objekten verschieden sein kann.

OBST (99) hat sich mit der Amphinucleolarsubstanz von *Helix*, *Limax* und der der Spinnen beschäftigt. Mit seiner Methode: Boraxkarmin-Methylgrün erhielt er beide Nucleolarsubstanzen färberisch distinkt dargestellt. Außer dem großen Amphinucleolus fand er gelegentlich eine größere Anzahl kleiner Nucleolen. OBST beschreibt den Zerfall von Nucleolen und die Wiedervereinigung der Bruchstücke. Über die Bedeutung der verschiedenen Nucleolarsubstanzen, wie über die Bedeutung der Nucleolen überhaupt, vermag er nichts auszusagen. Sicher ist, daß der Nucleolus (z. B. bei *Limax*) nicht zur Ausbildung der Chromosome verwendet wird. Bei *Limax* findet sich noch neben der ersten Richtungsspindel der Nucleolus. Die OBSTsche Färbemethode, die sonst bei Mollusken ganz gute Resultate gibt, versagte vollständig bei den verschiedenen *Patella*-Species, so daß ich zum Jodgrün-Fuchsin greifen mußte.

HÄCKER (99) betont wie früher (95), daß die Nucleolen Abbauprodukte des Stoffwechsels sind. Dieser als »Kernsecrettheorie« bezeichneten Annahme haben sich unter andern ANCEL (02, S. 533), LAMS (10, S. 112) angeschlossen. Nach HÄCKER (11) neigen sich zurzeit die Anschauungen eines großen Teiles der Forscher der Kernsecrettheorie zu.

Die Menge der als Stoffwechselabbauprodukt ausgeschiedenen Nucleolarsubstanzen soll in einem direkten Verhältnis zur Intensität der Wechselbeziehungen zwischen Kern und Zelle stehen.

Meine Befunde widersprechen dieser »Theorie«, wie ich das ausführlich im allgemeinen Teil (Abschnitt 6, S. 104) auseinandersetzen werde.

Dort erfahren auch (im Abschnitt 3, S. 98) die von HÄCKER aufgestellten drei Kerntypen (des Nucleolarapparates) eine ablehnende Kritik.

MONTGOMERY[1]) (99) widmet dem Nucleolarapparat eine 300 Seiten lange Untersuchung. Auf die Einzelheiten seiner Untersuchungen können wir hier nicht eingehen. Von seiner 50 Seiten langen Zusammenfassung muß ich aber einige Punkte erwähnen und richtig stellen.

1. Chemie des Nucleolus.

Es wurden nur Farbenreaktionen angestellt. Dabei wurde gefunden, daß sich die »echten« (= Plastin-) Nucleolen der somatischen und Geschlechtszellen immer oxychromatisch, das »Chromatin« immer basichromatisch färbt.

Diese Angabe muß ich bezüglich des Kernes wachsender Eier für zum mindesten ungenau erklären.

Die Nucleolarsubstanz des wachsenden Eies färbt sich in einer erdrückenden Mehrzahl von Fällen [mit den verschiedensten basisch-sauren Farbstoffgemischen] ganz rein basichromatisch. Diese Körper sind aber nach MONTGOMERY gar keine »echten Nucleolen«. Als solche werden vielmehr nur die oxychromatischen (Plastin-) Nucleolen angesprochen. Es wundert mich nun, daß es MONTGOMERY entgangen ist, daß die allermeisten Eikerne ja gar keine »echten Nucleolen«, sondern nur basische »Chromatinnucleolen« enthalten.

Die Zahl der »echten Nucleolen« beschränkt sich in Eikernen auf die relativ wenigen Fälle, wo, wie bei Mollusken-, sowie bei einigen Wurm- und Arthropodeneiern Amphinucleolarsubstanzen vorhanden sind, deren eine Komponente sich sauer färbt.

Das »Chromatin«, das immer im Gegensatz zur Nucleolarsubstanz angeführt ist und unter dem man demnach die Chromosome zu verstehen hat, soll sich während des Eiwachstums basichromatisch färben. Diese Angabe ist nach all den zahlreichen, oben diskutierten Fällen falsch.

Die Chromosome des wachsenden Eies sind oxychromatisch. MONTGOMERY hat eben das Gesetz der umgekehrten Reaktion der Kernkomponenten während des Eiwachstums — übersehen.

2. Zahl der Nucleolen.

MONTGOMERY hat eine große Anzahl von Metazoen bezüglich der Anzahl ihrer Einucleolen tabellarisch verarbeitet, um festzustellen, ob die Zahl der Nucleolen für die jeweiligen Eizellen eine fixe ist und ob sie auf irgendeine Weise durch die besondere Gruppierung der Metazoen bestimmt ist.

---

[1]) THOS. H. MONTGOMERY (1899), Comparative Cytological Studies, with Especial Regard to the Morphology of the Nucleolus. Journ. of Morph. Vol. XV.

[Unrichtig sind hierbei die Angaben für *Gryllotalpa* und *Columba*, die viele Nucleolen haben. *Piscicola* hat wohl meist nur einen Nucleolus.]

Die Schlüsse, die MONTGOMERY aus dieser Tabelle zieht, sind von Wichtigkeit.

a) Eine große Zahl von Nucleolen ist nicht immer charakteristisch für Eier mit einer beträchtlichen Deutoplasmamenge. Denn ein einzelner Nucleolus ist z. B. charakteristisch für viele Arthropoden, für *Petromyzon* und für Vögel.

b) Die Zahl der Nucleolen ist unabhängig von der Menge des Dotters, vom Modus der Teilung, vom Modus der Eiablage (d. h. ob pelagisch, im Kokon oder Uterus genährt).

c) Bei gewissen Metazoengruppen soll sich eine gewisse Einförmigkeit rücksichtlich der Nucleolenzahl finden.

Diese Einförmigkeit müssen wir für Selachier, Teleostier, Lungenfische, Amphibien, Reptilien zugeben, für die andern Gruppen aber nach unsern Untersuchungen ablehnen. Wenn sich MONTGOMERY gewisse Gruppen noch einförmig darstellten, so lag das eben an der beschränkten Menge des Untersuchungsmaterials. Ich bin der Überzeugung, daß sich mit der erweiterten Kenntnis noch immer größere — scheinbare morphologische — Regellosigkeiten in der Anordnung der Nucleolarsubstanz in einem bestimmten Tierstamm herausstellen werden. Für die Arthropoden gibt ja MONTGOMERY selbst ganz beträchtliche Differenzen (bezüglich Zahl und Ausbildung) der Nucleolen an. Für die als im wesentlichen mononucleolär dargestellten Stämme der Cölenteraten, Echinodermen und Mollusken, verweisen wir nur auf die polynucleoläre *Obelia* und den nicht minder nucleolenreichen *Echinaster*, sowie auf die zahlreichen Varianten des amphynucleolären *Patella*-Eies.

3. Bei der Lage der Nucleolen

betont MONTGOMERY mit Recht, daß eine Verbindung mit dem Chromatinreticulum in der Regel nicht besteht.

4. Die allgemeine morphologische Struktur der Nucleolen

wird zurückgeführt auf die flüssige bzw. visköse Beschaffenheit der Nucleolargrundsubstanz.

5. Die Vacuolen sind kein Derivat dieser Grundsubstanz, sondern scheinen extranucleolären Ursprungs, da die Grundsubstanz an Menge gleichbleibt, während die Vacuolen zunehmen.

Diese Beobachtung trifft für die von uns beschriebenen Fälle nicht zu.

6. Amöboide Beweglichkeit

scheint bei Nucleolen vorzukommen. Diese Bewegung scheint aktiv zu sein, da von einer Beweglichkeit der andern Kernbestandteile nichts bekannt ist. RHUMBLER (93) betrachtet sie als Auflösungsvorgänge auf Grund chemischer Veränderungen in ihren Substanzen.

Der Nucleolus kann sich teilen oder zerfallen. Der zweite Modus soll eine degenerative Erscheinung sein.

Dem widerspricht der Nucleolenzerfall im *Scolopendra*- und *Echinaster*-Ei.

7. Paranucleoli, Pseudonucleoli, Doppelnucleoli usw.

Der Hauptnucleolus ist dem der somatischen Zellen vergleichbar, der Paranucleolus (Nebennucleolus FLEMMINGS) ist färberisch und chemisch different. Er färbt sich weniger stark mit specifischen Nuclearfarben. In vielen Fällen, wo ein Paranucleolus neben einem Hauptnucleolus beschrieben worden ist, ist es wahrscheinlich, daß die Vacuole des Hauptnucleolus als »Nebennucleolus« beschrieben worden ist (besonders leicht bei lebender Beobachtung).

»Pseudonucleolen« unterscheiden sich strukturell vom Hauptnucleolus, färben sich aber ebenso.

Die Paranucleolen sind keine Derivate der Hauptnucleolen; sie entstehen als Produkte sui generis.

Im Kern werden sukzessiv Teile von Nucleolarsubstanzen deponiert. Die Portionen, die zuletzt deponiert werden, unterscheiden sich von der ersten Portion, da ja der Kern unterdessen wichtige physiologische und chemische Änderungen erfahren hat. Die erste Portion ist der Hauptnucleolus, die später deponierten Portionen wären die Paranucleolen.

Hier ist von MONTGOMERY ein wichtiger Tatsachenkomplex angeschnitten worden. Ich glaube aber nicht, daß seine Erklärung das Richtige trifft.

a) Denn es gibt ja sehr viele Eikerne, wo dauernd nur eine Art Nucleolarsubstanz vorhanden ist, und wo — auch gegen Ende des Eiwachstums — nur immer diese Art von Nucleolarsubstanz anschießt.

b) In den Fällen, wo zwei Nucleolarsubstanzen (Haupt- und Nebennucleolen) vorhanden sind, halte ich das für den Ausdruck eines ganz specifischen Stoffwechsels, wie er eben nur sehr wenigen Wurm- und Arthropodeneiern und den meisten Mollusken-eiern eigen ist.

Die erdrückende Mehrzahl der Eier hat doch immer nur eine (basichromatische) Nucleolarsubstanz.

8. Darin dagegen hat MONTGOMERY recht, wenn er betont, daß die Nucleolen der zweiten Generation (gegen das Wachstumsende) keine genetischen und physiologischen Beziehungen zu denen der ersten Generation haben.

Diese Erkenntnis ist von großer Wichtigkeit, handelt es sich doch hier um zwei Erscheinungen, die oft mit einander verquickt worden sind (z. B. HÄCKER). Ich glaube beobachtet zu haben, daß die zweite Generation der MONTGOMERYschen Nucleolen immer im Anschluß an die Chromosome entsteht (JÖRGENSEN 10b).

Ich habe sie deshalb auch Abschmelzungsnucleolen genannt. Sie treten in einem Zeitpunkte auf, wenn die riesigen Chromosome des Keimbläschens (z. B. die Lampenbürsten der Selachier, Teleostier, Amphibien, bei *Sagitta* u. a.) zu den kleinen Reifechromosomen verdichtet werden, wobei auch Substanz in Tropfenform abfällt.

9. Ontogenetischer Ursprung des Nucleolus.

MONTGOMERY schließt aus der peripheren Lage der Nucleolen im Moment ihres Auftretens in den Eiern von Nemertinen und deren Mesenchymzellen, daß ihre Substanz extranucleären Ursprungs sei, wie das neuerdings auch BUCHNER (10) für *Sagitta* angegeben hat (das Nähere hierüber S. 45).

Hierauf habe ich MONTGOMERY nur zu antworten: Wenn es zahlreiche Fälle gibt (wie bei Nemertinen, *Astacus*, *Decticus*, Teleostier, Amphibien u. v. a.), wo die Nucleolen in der Tat an der Kernmembran entstehen, so gibt es noch weit mehr Fälle, wo sie nicht dort, sondern innerhalb des Kernes in ganz ungeheurer Menge entstehen; ich erinnere von meinem Material nur an *Obelia*, *Scolopendra*, *Gryllotalpa*, *Echinaster* usw. Die Lage der Nucleolen an der Kernmembran kann niemals für ihre cytoplasmatische Entstehung in Anspruch genommen werden. Bei ganz nahe Verwandten entstehen die Nucleolen sowohl im Kern (z. B. *Gryllotalpa*), wie unmittelbar unter der Kernmembran (*Decticus*). Das gleiche gilt für Amphibien. In allen bisher sicher beobachteten Fällen entstehen die Nucleolen immer im Kern selbst und zwar oft unabhängig von den Chromosomen an jeder beliebigen Stelle.

Wenn Montgomery keine Beziehungen zwischen Nucleolen und Chromosomen gefunden hat, so ist das eine wichtige Beobachtung, die wie alle exakten neueren Beobachtungen gegen die nucleoläre Entstehung der Chromosome (Hartmann, Goldschmidt, Günther, Carnoy, Lebrun und Fick) spricht.

Trotzdem gibt es aber Fälle, wo sich die allerersten Nucleolen an Chromosome anlegen (*Bufo* nach Helen King [08], *Proteus* Jörgensen [10]). — Weiterhin legen sich alle »Abschmelzungsnucleolen« bei der Verdichtung der Chromosome an diesen an, usw.

Der Satz Montgomerys, daß die Nucleolarsubstanzen in vielen, wenn nicht in allen Zellen extranucleären Ursprungs sind, ist — als mit den Tatsachen unvereinbar — auf das entschiedenste zurückzuweisen.

10. Die Funktion der Nucleolarsubstanz.

Entsprechend seiner Ansicht von der extranucleären Herkunft der Nucleolen wendet sich Montgomery gegen Häckers (95) Annahme, daß die Nucleolen Secretionsprodukte der chromatischen Elemente sind. Montgomery hält es für wahrscheinlich, daß die Nucleolen in irgendeinem Verhältnis zu den nutritiven Prozessen und zum Wachstum des Kernes stehen.

a) Die Nucleolen sind entweder selbst nutritorische Organellen,

b) oder sie sind Speicher von Stoffwechselprodukten.

c) Die Einförmigkeit der Nucleolengrößen in einer gegebenen Species macht es unwahrscheinlich, daß sie Reservematerial von Nährsubstanzen bilden.

Die nutritive Bedeutung der Nucleolen wird dadurch bewiesen, daß alle Kerne, die durch eine große Anzahl bzw. Menge von nucleolärer Substanz charakterisiert sind, wachsende Kerne sind.

Wie wir im Abschnitt 2 unseres allgemeinen Teiles ausführen werden, ist auch diese Annahme Montgomerys, daß die Massenzunahme der Nucleolen charakteristisch für stark wachsende Kerne ist, nicht richtig. Damit bleibt das Schlußresultat von der nutrimentären Natur der Nucleolen, das sich ja auf ihre extranucleäre Herkunft und auf ihre Massenzunahme in wachsenden Kernen stützt, unbewiesen.

Lubosch (02) hat eine Zusammenfassung der bis dahin erschienenen Literatur über die Eibildung gegeben. Seine Darstellung liefert für unser Problem des Riesenwachstums des Eies keine neuen Gesichtspunkte. Etwas einseitig ist wohl die Annahme, daß »das Keimbläschenstadium zu betrachten ist als eine Anpassung des Kernes an veränderte biologische Momente seiner Umgebung, zum Schutze, zur Erhaltung und zur Ernährung seiner Erbmasse«.

Dies hat doch höchstens Geltung für Eier mit guten Nähreinrichtungen, die dauernd indifferente, kleine Keimbläschen besitzen (siehe erster Hauptteil).

Ich kann mir nicht recht denken, daß z. B. die Lampenbürsten eines Amphibieneies, oder die beschriebenen komplizierten Nucleolarapparate zur Erhaltung und Ernährung der Erbmasse dienen. Desgleichen kann ich mir die enorme Zunahme des Kernvolumens bei solitärer Eibildung nur so erklären, daß das Keimbläschen aktiv beim Eiwachstum eingreift. — Über die Rolle der Nucleolarsubstanz hat sich der Autor in einer zweiten Arbeit über das *Triton*-Ei folgende Meinung gebildet. Die Randnucleolen sind Tropho-, die Lampenbürstenchromosome Idiochromatin. Die Nucleolen entstehen an der Peripherie des Kernes, wandern dann in das Kerninnere und lösen sich dort flüssig — als Nährsubstanz — in die Chromosome auf. Ich habe diese Ansicht schon in meiner *Proteus*-Arbeit ausführlich widerlegt. Dort finden sich auch die Ansichten der andern Autoren über die Funktion der Randnucleolen des Fisch- und Amphibieneies.

Rhode (03) beschreibt unter anderm beim Froschei ausführlich verschiedentlich sich wiederholende Auflösungen von Nucleolen in Chromosome. Hierbei hatte er bereits das färberisch differente Verhalten beider Kernkomponenten gefunden. Er schließt aber daraus nicht auf ein getrenntes Nebeneinanderbestehen dieser beiden Substanzen, sondern meint, daß die Nucleolen bei ihrer Umwandlung ihre ursprüngliche Färbbarkeit einbüßen und sich wie die Chromosome färben. Die Auflösung der Nucleolen erfolgt durch fortgesetzte Teilungen, bzw. Knospung und Sprossung (im Gegensatz zu Carnoy, nach dem im Innern der Nucleolen Auflösungsfiguren, d. h. Perlschnüre, Flaschenbürsten usw. entstehen, die durch Platzen der Nucleolenwand frei werden).

Bei der Deutung seiner Befunde hat Rhode vollkommen unter der suggestiven Gewalt der Carnoyschen Anschauungen gestanden und ist deshalb gleichfalls in den Irrtum der verhängnisvollen Verquickung der Nucleolen einerseits mit den Chromosomen anderseits verfallen. Die neueren Arbeiten von Maréchal (06), Levi (06), King (08), Jörgensen (10) und auch die vorliegende Mitteilung beweisen die morphologisch vollkommene Unabhängigkeit beider Kernkomponenten voneinander. Die von Rhode untersuchten Froscheier sind nicht gerade günstige Objekte. *Salamandra atra* und *maculosa* sowie die Tritonen sind zur Klarstellung dieser Frage bei weitem geeigneter.

Interessiert hat mich die riesige Ausbildung der Nucleolarsubstanz im *Cobitis*-Ei.

Die Annahme Rhodes, daß auch die doppelteiligen Nucleolen (Amphinucleolen) der Autoren als Auflösungsfiguren im Sinne Carnoys aufzufassen sind, brauche ich wohl nicht erst als irrig hinzustellen.

Rhode ist ferner der Ansicht, daß die »erythrophilen« (oxyphilen) Nucleolen der Metazoen sämtlich von chromatinhaltigen, basischen Zuständen sich ableiten lassen. Wie viele Autoren, so haben auch wir (bei *Patella*) das nebeneinander Auftreten und getrennte Bestehenbleiben beider Nucleolarsubstanzen beobachtet. Deshalb kann ich diese Annahme Rhodes in dieser Form nicht annehmen. Wenn er aber damit sagen will, daß die anfangs stark basischen Nucleolen gegen Ende des Wachstums an Basizität verlieren, und infolgedessen dazu neigen, einen »sauren« Farbenton anzunehmen, so kann ich ihm nur zustimmen.

Kurz erwähnen möchte ich hier noch die kurze Darstellung von M. Heidenhain (07) in seinem Lehrbuch. Heidenhain fragt sich, »ob es vielleicht aus morphologischen Gründen notwendig ist, eine Klasse basophiler Nucleolen aufzustellen; wir möchten dies verneinen«. Die Farbenreaktionen Montgomerys (99), auf die sich Heidenhain mit stützt, sind, wie wir schon bei der Besprechung von Montgomerys Arbeit gezeigt haben, unrichtig. Heidenhain hat daher keinen Grund mehr, die Nucleolen der Eier zu den »echten« oxyphilen Nucleolen zu rechnen und »die allerhand Abweichungen von dem sonst gewohnten Verhalten vor allem auf Rechnung der besonderen Größe und Dichte zu setzen«; besonders auch nicht deshalb, weil schon die älteren Autoren wie Carnoy und O. Hertwig und viele neuere[1]) die Basizität der Einucleolen gelegentlich festgestellt haben.

Es gibt nach unsrer Darstellung eine wohl charakterisierte Klasse basophiler Nucleolen; sie wird gebildet von allen einheitlich gebauten — während des ganzen Eiwachstums vorhandenen, basichromatischen Nucleolen.

Nemec (10) hat in seinem zusammenfassenden Werke auch der Nucleolarsubstanz seine Aufmerksamkeit gewidmet. Er fand: »daß sich bei den Pflanzen, deren Kern-

---

[1]) Rhode (03), Lubosch (04), Schmidt (06), King (08), Jörgensen (10) halten die Amphibiennucleolen für nucleinhaltig.

teilung wir untersucht haben, weder morphologische noch cytologische Beziehungen zwischen den Nucleolen und Chromosomen feststellen ließen«. »Aber auch die mikrochemische Untersuchung konnte keinen einzigen Stützpunkt für eine solche Umwandlung liefern. Es müßte sich ja nachweisen lassen, daß ein Chromosom irgendwelche abweichende mikrochemische Eigenschaften zeigen wird, daß es sich vielleicht während der Prophase dem Verhalten der Nucleolen nähern wird, was sich durch seine Widerstandsfähigkeit gegen heißes Wasser und Alkalien nachweisen ließe, und daß es während der Anaphase und Telophase wieder zu dem Nucleolencharakter zurückkehren wird, worauf seine wenigstens teilweise Lösung in Salz- oder Phosphorsäure hindeuten könnte. Doch ist diese Hoffnung nicht in Erfüllung gegangen und auch das Studium der nach üblichen Methoden hergestellten Präparate hat mich überzeugt, daß GEORGEWITSCHS Angaben (von der Umwandlung der Nucleolen in Chromosome) nur auf unbegründeten Kombinationen beruhen.«

»Auch sonst ließen sich in unsern Versuchen keine identischen Stoffe in den Nucleolen und den Chromosomen nachweisen .« (Siehe auch ZACHARIAS 1910, S. 241). Diese Annahme scheint auch für die tierischen Zellen Geltung zu haben. Bei tierischen Eizellen entstehen wenigstens in der größten Mehrzahl der Fälle die basisch tingierten Nucleolen in voller Unabhängigkeit von den oxychromatischen Chromosomen, wenn auch gelegentlich von den Chromosomen (bei ihrem Abbau und ihrer Konzentration vor der Reifeteilung) nucleolenartige Körper abschmelzen können. — Abgesehen von dieser färberischen Differenz zeigt aber auch das Verhalten gegenüber Pepsin die auffällige chemische Verschiedenheit der beiden Kernkomponenten.

Überblicken wir zusammenfassend die verschiedenen Meinungsäußerungen, so finden wir, daß der Nucleolarsubstanz wohl alle überhaupt denkbaren Funktionen zugeschrieben worden sind. Von diesen kann man aber schon jetzt mehrere ausschalten.

1. Die Ansicht STRASBURGERS von der kinoplasmatischen Natur der Nucleolarsubstanz hat wohl bei Zoologen niemals recht Anklang gefunden.

2. Die Kernsecrettheorie HÄCKERS, die die Nucleolen für wertlose Stoffwechselprodukte hält, ist sicherlich unrichtig. Wie erklärten sich denn bei dieser Annahme die funktionellen Strukturen der — oft in keinem Verhältnis zu den übrigen Kernkomponenten stehenden, ganz enorm entwickelten Nucleolarsubstanz.

Ich habe diese Ansicht ausführlich im Abschnitt 6 des allgemeinen Teiles widerlegt.

3. Die Nucleolen enthalten das gesamte »Chromatin« des Kernes und mit ihm die Vererbungssubstanzen. In vielen Fällen sollen die Richtungsspindelchromosome aus dem Nucleolus hervorgehen. Wenn wir annehmen, daß in diesen Chromosomen die Vererbungssubstanz lokalisiert ist, müssen wir sie auch im Nucleolus, aus dem ja die Chromosome hervorgehen, annehmen. Diese Ansicht wurde durch zwei Serien von Arbeiten gestützt.

a) Einmal haben WILSON (01), HARTMANN (02), GOLDSCHMIDT (02), GÜNTHER (04) für mononucleoläre Eier die Entstehung der Reifechromosome aus diesem einen Nucleolus angegeben. Diese Angabe besteht nach den neueren Untersuchungen von JORDAN (07) und BUCHNER (11) am Echinodermenei nicht mehr zu Recht. Die Chromosome sind dauernd neben dem Nucleolus nachzuweisen.

Dieses Übersehen der Chromosome wird verständlich durch unser Gesetz der Reaktionsumkehr: Das ganze Basichromatin ist auf dem Nucleolus »konzentriert«; bei der alten Annahme, daß auch die Chromosome (während des Eiwachstums) sich basichromatisch färben, müssen sie also im Nucleolus sein und später aus ihm herauskommen. Da aber diesen Autoren die oxychromatische Reaktion der Chromosome

(während des Eiwachstums) unbekannt war, haben sie sie in dem gleichgefärbten Kernsafteiweiß (Kerngrundsubstanz) übersehen, und waren deshalb zu der Annahme ihrer nucleolären Entstehung gezwungen.

b) Die zweite Serie von Arbeiten bezieht sich auf die polynucleolären Eier, besonders der Fische und Amphibien, bei denen CARNOY, FICK, LUBOSCH und RHODE eine nucleoläre Entstehung der Chromosome angegeben haben.

Durch die neueren Arbeiten von LEVI (05), MARÉCHAL (06), KING (08), und JÖRGENSEN (10) wurde festgestellt, daß auch für polynucleoläre Eier diese Annahme falsch ist, d. h. daß beide Kernkomponenten morphologisch vollkommen unabhängig voneinander sind, wie das schon BORN (94) und RÜCKERT (92) festgestellt hatten.

4. Viele Autoren haben ferner angenommen, daß die Nucleolen Speicher für Reservestoffe des Chromatins sind [z. B. FLEMMING (82), KORSCHELT (89), RHUMBLER (93), HERTWIG (98) u. a.]. Ob diese Annahme für somatische Untersuchungen zutrifft, wissen wir nicht, nach den Angaben von NEMEC (10) will es uns kaum so scheinen. Für die Eizellen ist sie sicherlich unrichtig. Wie wir gleich auseinandersetzen werden, sprechen die enormen Massenschwankungen der Nucleolarsubstanz gegen eine solche Annahme.

IV. Hauptteil. 3.

Allgemeiner Teil.

1.

Die Masse der basichromatischen Nucleolarsubstanzen ist
unabhängig
von der Masse der oxychromatischen Chromosomensubstanz.

1. A priori könnte man annehmen und hat es ja auch getan (HEIDENHAIN 07, S. 198), daß einer gewissen Masse von oxychromatischer Chromosomensubstanz auch eine gewisse Masse von Nucleolen entspricht:

viel chromosomale Substanz . . . . viel Nucleolen,
wenig chromosomale Substanz . . . wenig Nucleolen;

daß also zwischen beiden Kernkomponenten ein Gleichgewichtszustand herrscht. Bei dieser Annahme könnte man die Nucleolarsubstanz für eine Art Speicher von Reservesubstanz für die Chromosome halten, wie das z. B. FLEMMING (82), KORSCHELT (89), RHUMBLER (93), R. HERTWIG in gewissem Sinne (98) und viele andre getan haben und könnte sagen: Wo viel chromosomale Substanz ist, da ist auch die Menge ihrer Reservesubstanz groß und umgekehrt.

Diese Vermutung wird durch die Beobachtung nicht bestätigt. In vielen Fällen findet sich die eine Zellkomponente extrem ausgebildet, die andre nur in Spuren vorhanden, während bei einer ganz nahe verwandten Form (von der man doch bei gleichem Wachstumstyp ähnliche

Stoffwechselbeziehungen erwarten sollte) gerade die umgekehrten Massenverhältnisse obwalten. Als Beispiel führe ich nur die Chilopoden (Taf. V) an:

Himentaria . . . viel Chromosome . . . wenig Nucleolen,
Scolopendra . . . wenig Chromosome . . sehr viel Nucleolen.

Entsprechend obiger Erwägung sollte man aber bei

Himentaria viel Nucleolen,
Scolopendra wenig Nucleolen

erwarten.

Alle Formen mit extremer Ausbildung des Nucleolarapparates erweisen dessen scheinbar völlige Unabhängigkeit von der Masse der oxychromatischen Chromosome, ja von der ganzen Masse der oxychromatischen Kerngrundsubstanz überhaupt:

Obelia hat viele Nucleolen — wenig chromosomale und Kerngrundsubstanz, bei

Echinaster stehen die Massen von Nucleolen in keinem Verhältnis zu der geringen Masse der Chromosome und der mäßig vorhandenen Kerngrundsubstanz.

Patella coerulea weist zahlreiche Nucleolen und nur wenig Chromosome auf usw.

---

2. Es wäre aber auch gerade die umgekehrte Auffassung denkbar, wie sie z. B. R. Hertwig (02) ausgesprochen hat. Das Grundgerüst des Kernes besteht nur aus achromatischer Substanz, in welcher das an die Nucleolarsubstanz gebundene und dadurch organisierte Chromatin eingelagert ist. So soll das chromatische Kerngerüst der Autoren entstehen. Ein Überschuß von Nucleolarsubstanz soll zur Bildung echter Nucleolen führen, welche wohl in der Mehrzahl der Fälle bei den Metazoen in ähnlicher Weise, wie beim *Actinosphaerium*, während der Karyokinese in den Aufbau der Chromosome nachträglich noch einbezogen werden.

Wollte man diese Annahme auf das ganz specifisch gebaute Keimbläschen mit der umgekehrten Reaktion seiner Chromosome und Nucleolen übertragen, so würde man auf folgende Schwierigkeiten stoßen:

a) Einmal haben alle neueren Autoren (Maréchal, King, Jörgensen, Nemec, Zacharias u. a.) die färberische und chemische Selbständigkeit der Chromosome einer-, der Nucleolen anderseits betont.

b) Wollte man aber trotz dieser färberisch-chemischen Differenzen die Nucleolarsubstanz für eine Art Reservesubstanz der Chromosome

halten und annehmen, daß bei gut ausgebildeten Chromosomen . . . nur wenig Reservesubstanz übrig wäre, bei schlecht ausgebildeten Chromosomen . . . aber viel Reservesubstanz übrig wäre, so würde die ganz extreme Ausbildung der »Nucleolarreservesubstanz« im *Scolopendra*-(Taf. V) und *Echinaster*-Ei (Taf. VI) unerklärlich sein. Denn was nützte es in diesen Fällen, wenn der Kern von nucleolärer Reservesubstanz vollgestopft wäre, wenn diese niemals zur Bildung der nur geringen Chromosomenmassen verbraucht würde.

Wir können demnach wohl die Annahme von der Reservesubstanznatur der Nucleolen — für das wachsende Ei — als sehr wenig wahrscheinlich ablehnen.

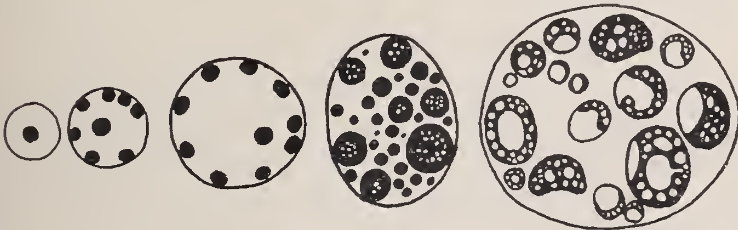
2.

Die Zahl der Nucleolen und ihre Masse ist unabhängig vom Wachstum des Kernes und von der Intensität des Stoffwechsels zwischen Kern und Zelle.

1. Unabhängigkeit vom Kernwachstum.

Montgomery (99) ist der Ansicht, daß die Nucleolen in irgendeinem Verhältnis zu den nutritiven Prozessen des Kernes stehen Das glaube

Textfig. 15.



Keimbläschen von *Cobitis* (nach Rhode 03): ein Beispiel für die Unabhängigkeit von Kernwachstum einer-, Nucleolenwachstum andrerseits. In dem verhältnismäßig nur wenig wachsenden Keimbläschen tritt eine ungeheure Zahl von Nucleolen auf. (Zeichnungen nach Schnittpräparaten.)

ich auch und habe meine Gründe für diese Annahme in Artikel 6, S. 103 niedergelegt.

Montgomery glaubt nun weiterhin, wenn die Nucleolen nutritive Organellen wären, so müßten sie auch mit dem Wachstum des Kernes in Parallele gebracht werden können. Er sucht deshalb zu beweisen, daß alle Kerne, die eine große Anzahl bzw. Masse von Nucleolen aufweisen, stark wachsende Kerne sind.

a) In vielen Fällen mag das wohl zutreffen; wenn wir aber ein größeres Material durchsehen, stoßen wir auf gewichtige Widersprüche. Ich verweise hier auf das *Nephelis*-Keimbläschen mit seinem geringen Wachstum und seinen zahlreich auftretenden Nucleolen (Textfig. 12, S. 46). Das schlagendste Beispiel für die Unabhängigkeit von Kernwachstum einer-, Nucleolenwachstum anderseits ist aber das *Cobitis*-Keimbläschen (nach RHODE 1903). Während des ganz unbeträchtlichen Kernwachstums nehmen die Nucleolen derart an Zahl und Masse zu, daß der ganze Kern vollständig mit ihnen angefüllt ist (Textfig. 15).

b) Anderseits gibt es sehr stark wachsende Eikerne: *Himentaria*, *Blatta*, *Petromyzon*, *Bdellostoma* u. a., die trotz ihres riesigen Wachstums nur einen Nucleolus besitzen.

c) Drittens aber haben wir bei unsern speziellen Untersuchungen ein Objekt namhaft gemacht: *Patella*, bei dem wir Species mit wenig und solche mit viel Nucleolarsubstanz vorfanden. Nach der MONTGOMERYschen Annahme müßten die Species mit wenig Nucleolarsubstanz kleine Kerne bei geringem Kernwachstum, die mit viel Nucleolarsubstanz große Eikerne bei großem Kernwachstum aufweisen. Wie aber schon erwähnt und aus Taf. XI ersichtlich, sind die Kerngrößen beider extrem gebauter Species [so wie die der Zwischenglieder] einander gleich.

Also auch in diesem Falle können wir die völlige Unabhängigkeit der Kerngröße und des Kernwachstums von der Masse der Nucleolarsubstanz konstatieren.

2. Die Unabhängigkeit der Nucleolarsubstanz von der Stoffwechselintensität zwischen Kern und Zelle.

MONTGOMERY (99) hat die sogenannte »Kernsecrettheorie« HÄCKERS, nach der die Nucleolarsubstanz ein wertloses Stoffwechselprodukt des Kernes sein soll, dahin modifiziert, daß dort, wo enge physiologische und Ernährungsprozesse zwischen Kern und Zellkörper existieren, auch eine relativ große Menge von Nucleolarsubstanz im Kern auftritt.

Unsre Befunde widersprechen aber auch dieser »modifizierten« Ansicht MONTGOMERYS.

Denn — a priori — müssen wir bei gleich ernährten Eiern [die nach dem gleichen Wachstumstypus — nucleär oder nutrimentär — gebaut sind], besonders bei nahe verwandten Species annehmen, daß die ernährungsphysiologischen Prozesse zwischen Kern und Zelle gleich sind; und doch hat das Ei der

α) einen Species nur einen Nucleolus (*Eutimium*, *Himentaria*, *Blatta*, mononucleoläre Echinodermen),

β) das Ei der andern, nahe verwandten Species aber viele Tausende Nucleolen (*Obelia*, *Scolopendra*, *Decticus*, *Gryllotalpa*, *Gryllus*, *Echinaster*).

Die eindeutigsten und übersichtlichsten Vergleichsverhältnisse bieten aber auch hier die nucleär wachsenden Eier der verschiedenen *Patella*-Species. Die Eier aller dieser fünf Species werden gleich ernährt; alle besitzen annähernd gleich große Kerne, die mit dem bei allen fünf Species gleich großen Eiplasma in einem bei allen fünf Species gleichen Stoffwechsel stehen, — und doch hat die eine Species (*Patella rota*) nur wenig, die andre Species (*Patella coerulea*) aber enorm viel Nucleolarsubstanz.

Aus diesem Vergleich erhellt wohl am ehesten die völlige Unabhängigkeit der Nucleolarsubstanz von der Stoffwechselintensität zwischen Kern und Plasma.

Wir müssen daher auch das Schlußresultat der großen Montgomeryschen Arbeit: — Die extranucleäre Herkunft und speziell die große Menge der Nucleolen in wachsenden Eikernen beweisen, daß sie in intimem Zusammenhang mit den Phänomenen der Kernernährung stehen — als nicht bewiesen ablehnen.

Die beiden Beweise sind nicht stichhaltig; die Behauptung kann ja wahr sein, bewiesen aber — wurde sie nicht.

M. Heidenhain (07) versucht nun in seinem Lehrbuche die Ansicht Montgomerys von der Parallelität zwischen Kernwachstum und Nucleolenzunahme [an Zahl oder Masse] zu stützen. Hierbei setzt Heidenhain (S. 198) das Kernwachstum gleich der Vermehrung des Chromatins.

[Ob man beide Prozesse überhaupt so ohne weiteres einander gleichsetzen kann, wage ich nicht zu entscheiden. Ich glaube nicht. Ich kann mir ganz gut vorstellen, daß bei einem riesigen Kernwachstum der Chromatingehalt derselbe bleibt. Der Kern nimmt dabei eben große Mengen von Flüssigkeit auf. Dieses Verhalten ist wohl immer bei der schnell vor sich gehenden Umwandlung des Spermakopfes in den männlichen Vorkern verwirklicht. Hierbei wächst ja der Spermakern enorm, ohne daß — bei der Kürze der Zeit — die Chromatinmenge zunehmen könnte.]

Aber gesetzt, beide Prozesse seien gleichbedeutend, so könnten wir uns doch nicht mit der Ansicht Heidenhains von der Parallelität zwischen Chromatinvermehrung und Nucleolenzunahme befreunden. Heidenhain führt zwar eine Reihe schöner Fälle an (Riesenknochenmarkszellen, Riesenganglienzellen, Hautgiftdrüsenzellen, deren Kerne zahlreiche Nucleolen besitzen); und ich bin auch überzeugt, daß sich noch in vielen andern Fällen, besonders somatischen Zellen eine gewisse Parallelität zwischen beiden Kernkomponenten nachweisen läßt, es gibt aber auch reichlich andre Fälle, die das schöne Gesetz wieder umwerfen.

Ich verweise hier nur auf die »relativ kleinen« Kerne von *Obelia*, *Scolopendra*, *Patella coffea*, wo fast keine oder sehr wenig chromosomale Substanz vorhanden ist, die aber vollgestopft sind von Nucleolen. (Nach Heidenhain sollten sie nur wenig Nucleolarsubstanz enthalten.) Wo aber wirklich eine große Zunahme des Chromatins stattgefunden hat, wo wir also nach Heidenhain reichliche Massen von Nucleolarsubstanz erwarten sollten, da findet sich ein einziger Nucleolus (*Eutimium*, *Himentaria*, *Bdellostoma*), wie wir das schon ja im Abschnitt 1 auseinandergesetzt haben.

Deshalb können wir uns auch nicht der theoretischen Erklärung, die Heidenhain auf Seite 200—202 seines Buches gegeben hat und auf die wir hier verweisen, anschließen, zumal Heidenhain noch nicht die Gesetzmäßigkeit von der umgekehrten Reaktion der Kernkomponenten im wachsenden Eikern gekannt hat.

Nach Heidenhain lagern sich die phosphorreichen, basichromatischen Verbindungen den Chromosomen, die phosphorarmen, oxychromatischen Eiweißverbindungen dagegen den Nucleolen an.

Bei den Kernen der Eizellen ist es natürlich gerade umgekehrt, wie auch die Verdauungsreaktion mit Pepsin HCl beweist.

Weiterhin möchte ich noch die Aufmerksamkeit lenken auf die Abhängigkeit der augenblicklichen Kerngröße von der Masse der chromosomalen und nucleolären Substanzen.

Nach Boveri soll ja die Kernoberfläche (nicht der Kerninhalt) proportional der Chromosomenzahl sein.

Nach Analogieschluß könnte man nun annehmen, daß während des Eiwachstums

eine große Masse von chromosomaler Substanz auch große Kerne mit großer Oberfläche,

eine geringe Menge von chromosomaler Substanz nur kleine Kerne mit kleinerer Oberfläche

besäßen, daß demnach

alle Eikerne eine gewisse durchschnittliche »Dichte« aufwiesen.

Für die Chromosome ist die Bestimmung ihrer Masse nun äußerst schwer, wenn nicht unmöglich, da sie ja während des Eiwachstums die gleiche oxychromatische Reaktion wie die Kerngrundsubstanz und das »Achromatin« aufweisen.

Immerhin will es mir scheinen, als ob sich schon zwischen den Kernen verschiedener Species beträchtliche Dichtigkeitsunterschiede finden ließen,

indem die einen Kerne reicher, die andern ärmer an wasserheller Flüssigkeit wären.

Was nun nach Boveri für die Chromosome Geltung hat, könnte man a priori nun auch für die Masse der Nucleolarsubstanz annehmen und vermuten:

große Massen von Nucleolarsubstanz finden sich in großen Kernen, geringe Mengen von Nucleolen finden sich in kleinen Kernen.

Die Beobachtung widerlegt diese Vermutung.

Wir finden große Massen von Nucleolarsubstanz in relativ kleinen Kernen (*Obelia*, *Scolopendra*, *Echinaster*, *Melamphaës*, *Cobitis*); geringe Mengen von Nucleolarsubstanz in relativ großen Kernen (*Eutimium*, *Himentaria*, *Astacus*, *Bdellostoma*).

3.

Die Zahl der Nucleolen bzw. ihre Masse ist
unabhängig
von dem Dotterreichtum des Eies.

Wir dürfen hier in erster Linie nur nucleär wachsende Eier (ohne extracelluläre Nährvorrichtungen) heranziehen, da sehr viele dotterreiche Eier diesen ihren Dotterreichtum nicht der Wirksamkeit ihres Kernes und seiner Nucleolen, sondern der Secretion von Nähr- und Follikelzellen verdanken.

α) Die Leptomeduse *Eutimium* (Taf. IV), die ebenso dotterreich ist, wie die polynucleoläre Leptomeduse *Obelia* hat nur einen Nucleolus.

β) Von den verschiedenen *Patella*-Species haben die einen nur kleine Mengen, die andern enorme Massen von Nucleolarsubstanz (Taf. VIII bis XI). Und doch sind ihre Zellgrößen und ihr Dotterreichtum völlig gleich. Schon im Anschluß an diese Befunde habe ich oben (S. 72) die gleich zu erwähnende Einteilung Häckers einer ablehnenden Kritik unterzogen.

γ) Andre Formen, die nahe verwandt sind und die gleichen follikulären Nährvorrichtungen aufweisen [bei denen man also a priori einen gleichen Anteil des Kernes — seiner Chromosome und Nucleolen — am Eiwachstum annehmen muß], besitzen sowohl

nur einen Nucleolus:	*Piscicola*	*Himentaria*	*Blatta*	dotterreiche Echinodermen	*Petromyzon*, *Bdellostama*
	↓	↓	↓	↓	↓
oder viele Nucleolen:	*Nephelis*	*Scolopendra*	*Decticus*, *Gryllus*, *Gryllotalpa*	*Echinaster*	Selachier, Teleostier.

Diese Tatsache widerspricht den Verallgemeinerungen Häckers (95 u. 99), der drei Nucleolentypen aufgestellt hat.

a) Den Echinodermentypus, mit nur einem einzigen, großen indifferenten Keimfleck, der sich bei kleinen, dotterarmen Eiern finden soll.

»Allerdings können sich neben demselben, namentlich gegen Schluß des Keimbläschenstadiums, noch einzelne kleinere nucleoläre Bläschen einstellen, [,Abschmelzungsnucleolen' nach dem Verf.], aber der in Einzahl vorhandene Hauptnucleolus tritt stets in unzweideutig typischer Weise in den Vordergrund.«

Durch den Nachweis einer großen Anzahl dotterreicher und doch mononucleolärer Eier aus jedem Tierstamm (*Eutimium* — Meduse; *Himentaria* — Arthropoden wie *Blatta*; *Petromyzon* — *Bdellostoma* — Wirbeltiere) ergibt sich wohl die Unrichtigkeit dieser Verallgemeinerung.

b) Bei dotterreichen Wirbeltiereiern soll sich der Vertebratentypus, ein multinucleolärer Zustand finden. Die eben zitierten dotterreichen Formen mit ihrem nur in Einzahl vorhandenen Nucleolus widersprechen auch diesem dotterreichen, polynucleolären Vertebratentypus.

Auch List (97, S. 486) weist darauf hin, »daß bei dem bis jetzt untersuchten Material so wenig Tatsächliches heraus gekommen ist, daß die Angabe Häckers (95), wonach kleine dotterarme Eier den mononucleolären Echinodermentypus, große dotterreiche hingegen dem polynucleolären Vertebratentypus folgen, noch auf sehr schwanker Basis steht. — Erst wenn man die Ernährungsvorgänge der verschiedenen Eitypen näher untersucht hat, wird man der Lösung dieses Rätsels näher kommen.«

Wir haben nun aber die Ernährungsverhältnisse der Eier (ob unicelluläres ob nutrimentäres Wachstum) in Rücksicht gezogen und haben trotzdem bei nahe verwandten Formen, die sich biologisch gleich verhalten und ähnlichen Stoffwechsel haben müssen, eine verblüffende Fülle extremster Nucleolenausbildung festgestellt. (Siehe z. B. nur den einen Fall der *Patella*-Eier.) So können wir wohl sagen, daß die Nucleolarsubstanz uns vorläufig nicht von den Ernährungsvorrichtungen des Eies abzuhängen scheint, sondern eine specifische Substanz ist, die

α) entweder in den verschiedenen Eiern jeweils ganz verschieden voneinander ist,

β) oder ihre verschiedene Massenausbildung erfährt in Abhängigkeit von ganz specifischen, unbekannten Stoffwechselvorgängen des Eies.

c) Im Lamellibranchiatentypus Häckers setzt sich der Hauptnucleolus vielfach aus zwei Substanzen zusammen, nämlich aus Haupt- und Nebennucleolarsubstanz.

Nach den Befunden an *Patella* scheinen mir auch diese Verhältnisse doch wesentlich komplizierter zu liegen. *Patella* weist in einigen ihrer Species Eier auf, die in gewissen größeren Wachstumsperioden ohne Zweifel dem Lamellibranchiatentypus angehören (z. B. *Patella rota*, Fig. 132—138, Taf. VIII, und *Patella tramoserica*, Fig. 142—147, Taf. VIII). Wenn aber die gleichen Species auf späteren Wachstumsstadien oder andre Species die auf Fig. 200 sichtbaren hochkomplizierten Nucleolarverhältnisse aufweisen, so ist eben der Lamellibranchiatentyp Häckers zu eng gefaßt und bedarf der Erweiterung. Diese kann sachgemäß aber erst dann erfolgen, wenn man eine weit größere Zahl Mollusken gleichzeitig untersucht und besonders die nächsten Verwandten von *Patella*: *Halyotis*, *Fissurella* u. a. (bei denen sich, wie mir Beobachtungsbruchstücke zeigen, ähnliche komplizierte Nucleolarverhältnisse auffinden lassen). Und zwar darf man sich nicht, wie das Beispiel unsrer *Patella* so gut illustriert, auf eine Species, auf einen Fundort beschränken, sondern muß sowohl mehrere Species von verschiedenen Fundorten, sowie besonders eine Species von verschiedenen geographischen Regionen untersuchen. Ist es doch leicht möglich, daß eine und dieselbe Species, je nach ihren verschiedenen Fundorten, eine große Variabilität ihrer nucleolaren Verhältnisse aufweist (Standortsvarietäten). Da *Patella* und viele andre Mollusken sowohl in See- wie im Brackwasser vorkommen, müßte man diese Frage auch experimentell anfassen können (durch Erhöhung und Erniedrigung der Salzkonzentrationen, durch Ca-, Mg- usw. Hunger nach dem Vorgange von Herbst [96 u. 97]).

Diese Versuche erscheinen gerade bei *Patella* sehr aussichtsreich, hat doch schon Beudant (zitiert nach Fürth 1904, S. 640) vor 100 Jahren *Patella* an Süßwasser gewöhnt, so daß sie mit *Anodonta* in einem Teich zusammen lebte. Ich bedaure sehr, daß mir mein binnenländischer Aufenthalt die Ausführung dieser aussichtsreichen Experimente versagt.

Bevor also diese Untersuchungen nicht im großen Maßstab durchgeführt sind, möchten wir den »Lamellibranchiatentypus« der Nucleolarsubstanz suspendieren, besonders da schon gelegentlich Flemming, List und Obst bei Mollusken, Spinnen u. a. außer dem Amphinucleolus zahlreiche (bis 22) weitere Nucleolen nachgewiesen haben.

Wenn man aber unter Lamellibranchiatentypus nur den Besitz von zweierlei Nucleolarsubstanz versteht, so ist diese Bezeichnung auch dann nicht empfehlenswert, da sie falsche Vorstellungen erweckt.

Denn nicht nur die Lamellibranchiaten, sondern fast alle Mollusken, einige Echinodermen, viele Würmer und einige Arthropoden (Spinnen) zeigen zweierlei Nucleolarsubstanzen (Montgomery 99 und Obst 99).

4.

Die Masse und Anordnung der Nucleolarsubstanz ist unabhängig von dem Wachstumstypus des Eies.

In unsrer ersten Häufigkeitserscheinung haben wir die Abhängigkeit der Kerngröße von dem Vorhanden- bzw. Nichtvorhandensein extracellulärer Nähreinrichtungen nachgewiesen. Wo Nähr- und Follikelzellen vorhanden sind, da sind die Eikerne (im Vergleich zum Plasma) dauernd klein; wo keine cellulären Nährvorrichtungen des Eies ausgebildet sind, ist der Eikern (im Vergleich zum Plasma) bedeutend voluminöser, d. h. bei nucleärem Eiwachstum (ohne Nähreinrichtungen) ist die Kernplasmarelation zugunsten des Eikernes verschoben.

Man sollte nun von vornherein annehmen können (und ich habe das früher auch getan), daß sich eine auffallende Entwicklung des chromosomalen und nucleolären Apparates besonders in den Eikernen finde, die keine Nährvorrichtungen haben.

Sollte dies der Fall sein, dann hätten wir ja den besten und einfachsten Beweis für die funktionelle Bedeutung der Chromosome bzw. der Nucleolen.

Die Betrachtung zahlreicher Fälle widerlegt aber auch diese naheliegende Annahme.

1. Es finden sich gut genährte Eier, die trotz ihrer Tausenden von Follikelzellen zahlreiche Nucleolen ausbilden, obwohl ihr Eikern fast gar nicht wächst. Ich verweise hier auf Taf. I, Fig. 18—20, die das riesige follikuläre Wachstum des *Oktopus*-Eies zeigen, bei dem der — vergleichsweise — fast gar nicht wachsende Kern sechs bis acht Nucleolen ausbilden kann (Taf. VI, Fig. 95—98. Diese Nucleolen werden »verbraucht«. Auf späteren Stadien findet sich nur noch ein Nucleolus, Fig. 99).

Ähnlich verhält es sich mit dem *Nephelis*-Ei (Fig. 13—15, Taf. I), dessen Eikern — bei geringem eignem Wachstum und großer follikulärer Ernährung — zahlreiche Nucleolen ausbildet. Das gleiche bemerken wir bei den polynucleolären Insekteneiern (*Decticus*, *Gryllotalpa*, Fig 57 bis 70, Taf. V) mit ihren ganz riesigen follikulären Einrichtungen. Interessieren wird es hier wohl auch, daß Fälle von extremster Ausbildung des Nucleolarapparates wie *Scolopendra* (Taf. V, Fig. 44—52) einen stark ausgebildeten Follikel haben, der viel bedeutender ist als der des nahe verwandten *Himentaria*-Eies, das trotz seines kleineren Follikelepithels nur einen Nucleolus aufweist.

2. Und anderseits zeigen viele singulär wachsende Eier (ohne Nährvorrichtungen) nur einen, relativ kleinen Nucleolus (*Sykon*, *Eutimium*, die mononucleolären Echinodermeneier u. a.).

5.

Die Masse und Anordnung der Nucleolarsubstanz ist
unabhängig
von der systematischen Stellung der betreffenden Species.

Eine gewisse Einförmigkeit der Nucleolarsubstanz ist nach unsern bisherigen — immerhin noch begrenzten — Kenntnissen wohl sicherlich für Selachier, Teleostier, Lungenfische, Amphibien und Reptilien zuzugeben. Gemeinsam ist allen diesen Formen die größere Anzahl der Nucleolen und damit verbunden eine gewisse Massenzunahme der Nucleolarsubstanz.

Im einzelnen können sich aber große morphologische Differenzen finden. Ich verweise nur auf die Compoundnucleoli von *Bufo* (King 08) oder auf die Veränderungen der Nucleolarsubstanz beim Tiefseefisch *Melamphaës* (Taf. VI).

Abgesehen aber von dieser Einheitlichkeit der Nucleolarsubstanz bei Wirbeltieren (*Amphioxus*, *Petromyzon* und *Bdellostoma* sind mit ihrem einzigen Nucleolus ausgenommen), herrscht bei dem mir vorliegenden, doch äußerst spärlichen Material der andern Tierstämme bereits eine chaotische Mannigfaltigkeit, die sich — davon bin ich fest überzeugt — bei Kenntnis weiteren Materials noch unendlich steigern wird.

Für die Tierstämme der Wirbellosen lassen sich also keine Nucleolentypen aufstellen. Besonders auffällig ist die Tatsache, daß ganz nahe verwandte Species ganz extreme Nucleolarverhältnisse aufweisen können. Die folgende Tabelle, die sich hauptsächlich auf eigne Befunde beziehen soll, gibt darüber am besten Aufschluß.

		Nucleolenzahl	
	1. Cölenteraten.		
Leptomedusen	a) *Eutimium*	einen	
	b) *Obelia*		viele
	2. Würmer.		
Nemertinen	a) *Carinella* u. a. (Bürger)	einen	
	b) *Tetrastemma* u. a. (Montgomery)		viele
Hirudineen	a) *Piscicola*	einen	
	b) *Nephelis*		viele

	Nucleolenzahl	
3. Echinodermen.		
Die meisten Formen	einen	
Echinaster, *Cribrella* (Jordan)		viele
4. Mollusken.		
Prosobranchier a) *Patella rota* } von einem Amphinucleolus alle	einen	
b) *Patella coerulea* } Übergänge zu sehr vielen		viele
5. Arthropoden.		
Chilopoden a) *Himentaria*	einen	
b) *Scolopendra*		viele
Insekten (Orthopteren) a) *Blatta*	einen	
b) *Decticus*, *Gryllotalpa*, *Gryllus*		viele
» (Coleopteren) a) *Carabus* (Stuhlmann)	einen	
b) *Necrophorus*, *Geotrupes* (Stuhlmann)		viele
6. Wirbeltiere.		
Amphioxus, *Petromyzon*, *Bdellostoma*	einen	
Selachier, Teleostier, Lungenfische, Amphibien, Reptilien		viele

Ich verweise hier noch einmal besonders auf die bildlich einander gegenübergestellten Fälle von

Eutimium — *Obelia* (Taf. IV),
Himentaria — *Scolopendra* (Taf. V),
Blatta — *Decticus*, *Gryllotalpa*, *Gryllus* (Taf. V),
Bdellostoma — *Melamphaës* (Taf. VI).

Hieraus ergibt sich die große »Specifizität« der Nucleolarsubstanz, die völlig unabhängig ist von

1. der Masse der oxychromatischen Chromosomensubstanz,
2. dem Wachstum des Kernes und von der Intensität des Stoffwechsels zwischen Kern und Zelle,
3. dem Dotterreichtum des Eies;
4. dem Wachstumstypus (ob solitärer oder nutrimentärer Typus),
5. der systematischen Stellung der betreffenden Form

und deshalb auch — auf gegebene Daten hin — im voraus nicht berechnet werden kann.

Was können wir nun nach soviel negativen Kriterien Positives über die Nucleolen aussagen?

6.

Die Nucleolen sind während des Eiwachstums dauernd im Eikern vorhandene, aktive Zellorganellen,

die in hohem Maße für Kern und Zelle funktionell tätig sind. Viele Autoren, unter ihnen wieder in verallgemeinernder Weise Häcker, haben ihnen nur eine sekundäre Bedeutung zugeschrieben. Häcker (95) hält sie nicht für Kernorgane, sondern für Secretionsprodukte der chromatischen Elemente, dazu bestimmt, aus dem Kern herausgeschafft zu werden. Die Nucleolarsubstanz soll ein Stoffwechselprodukt darstellen, dessen Erzeugung und Masse in einem gewissen Abhängigkeitsverhältnis zur Intensität der vegetativen Leistungen von Kern und Zelle stehen (Kernsecrettheorie). Ich glaube, daß Häcker hier zweierlei Arten von Nucleolen, die zeitweise gleichzeitig in einem Eikern vorkommen können, nicht genügend auseinander gehalten hat.

1. Die Einucleolen, wie sie in jedem Ei von Anfang an vorhanden sind und wegen ihres riesigen Wachstums oft allein als Einucleolen imponieren.

2. »Abschmelzungsnucleolen«, wie sie sich ja sehr häufig gegen Ende des Eiwachstums als kleine kompakte Flüssigkeitströpfchen an den Chromosomen abscheiden (wie ich das für *Proteus* (10) beschrieben habe und wie es auch hier (Fig. 38 u. 39, Taf. IV) — wenn auch nur schwach ausgebildet — bei *Sagitta* zu sehen ist).

Diese letzteren sind in der Tat unbrauchbare, von den Chromosomen abgestoßene Stoffe (secretartige Abspaltungsprodukte), sie vergrößern sich aber nicht allmählich, und werden auch nicht schubweise gegen die Kernmembran getrieben und bilden dort Randnucleolen — wie das Häcker meint —, sondern sie zerstäuben im Kern.

Besonders aber sind sie, kleine kompakte Tropfen, nicht zu verwechseln mit den von allem Anfang an vorhandenen vacuolisierten Einucleolen, die meist an der Kernperipherie entstehen, eine gesetzmäßige (oft chromosomenartige) Oberflächenvergrößerung zeigen und im Gegensatz zu den oxychromatischen Chromosomen basichromatisch reagieren.

1. Wenn die Einucleolen Secretionsprodukte der Chromosome sein sollen, so müssen sie auch in einem gewissen Massenverhältnis

a) zu ihnen stehen. Wo viel Chromosome sind, müssen auch viel Nucleolen sein; wo wenig Chromosome sind, wenig Nucleolen. Dies ist aber nicht der Fall, wie wir bereits auf S. 91 sahen.

Im Gegenteil, wo relativ wenig chromosomale Substanz ist, finden sich viele Nucleolen: *Obelia*, *Echinaster*, *Scolopendra*, *Melamphaës*. Besonders verweise ich hier auf das *Scolopendra*-Ei (Fig. 51 u. 52, Taf. V).

Es ist ganz undenkbar, diese ungeheuren Massen von Nucleolarsubstanz als Secretionsprodukte der wenigen oxychromatischen Chromosomenfäserchen hinzustellen.

Abgesehen davon ist in allen modernen, besonders Teleostier- und Amphibieneiarbeiten ein Kontakt der beiden fraglichen Kernkomponenten immer nur als zufälliger hingestellt, aus dem man keine Schlüsse betreffs der Genese der Chromosome oder Nucleolen ziehen kann.

b) Wenn nun die Nucleolen auch keine Secretionsprodukte der Chromosome sind, so könnten sie doch (nach Montgomerys, Häckers u. a. Annahme) vielleicht Speicher für die Stoffwechselprodukte des Kernes sein, dazu bestimmt, früher oder später aus dem Kern auszutreten. Häcker stellt sich ja sogar — wie erwähnt — ein bestimmtes Massenverhältnis der Nucleolarsubstanz zur Intensität des Kernplasmastoffwechsels vor.

Dieser Annahme widerspricht aber die Tatsache, daß die Nucleolen der Eikerne Strukturen erkennen lassen, die nur als Strukturen einer stark funktionierenden Substanz verständlich sind.

Wären die Nucleolen wertlose Stoffwechselprodukte, so würden sie entsprechend ihrer Passivität bei ihrer flüssig-viskösen Beschaffenheit die inaktive Kugelform mit minimalster Oberfläche annehmen. Dies ist ja nun in der Tat in vielen Eiern der Fall. Daneben zeigen uns aber sehr viele andre Eier eine ganz specifische Oberflächenvergrößerung der Nucleolarsubstanz, die in manchen Fällen sogar an Chromosome erinnern kann (*Melamphaës*-Nucleolen).

Die mit riesiger Oberflächenvergrößerung ausgestatteten Chromosome (die Lampenbürsten von *Sagitta*, Arthropoden, Selachier, Teleostier, Amphibien) hält niemand für wertlose Stoffwechselprodukte des Kernes, sondern für funktionelle Strukturen der betreffenden Chromosome.

In gleicher Weise sind wir auch berechtigt, die Strukturen der Nucleolen, die auf jeweils ganz bestimmte Oberflächenvergrößerungen abzielende:

strangförmig-fädige Auflösung der Nucleolarsubstanz
bei *Obelia* (Taf. IV)
bei *Melamphaës* (Taf. VI, VII),

flächenhafte Ausbreitung der Nucleolarsubstanz
bei *Sagitta* (Taf. IV),

Bildung von Nucleolennestern und deren Zerfall
bei *Scolopendra*, bei *Decticus*, bei *Gryllotalpa* (Taf. V),
bei *Gryllus* (Taf. VI),

und besonders schön bei *Echinaster* (Taf. VI).

für funktionelle Strukturen zu halten, wie sie nur Substanzen eigen sind, die aktiv in das Zellgeschehen eingreifen; wie sie in ihrer gesetzmäßigen Mannigfaltigkeit undenkbar sind für unnütze Stoffwechselprodukte, die passiv im Kern aufgespeichert werden.

2. Eine weitere Tatsache spricht ferner gegen die Häckersche Annahme. Wäre die Nucleolarsubstanz wirklich ein Stoffwechselendprodukt des Kernes, so müßte sie bei weiterem Wachstum des Kernes — immer mehr zunehmen. Das ist bis zu einem gewissen Grade ja nun auch der Fall. Dann aber kommt in sehr vielen Fällen ein Zeitpunkt, wo die mächtig herangewachsene Nucleolarsubstanz wieder abnimmt, wo sie allmählich wieder »verbraucht« wird, so daß im Keimbläschen kurz vor seiner Auflösung nur noch wenig — in einigen Fällen überhaupt keine — Nucleolarsubstanz mehr vorhanden ist. Ich verweise hier auf *Sagitta* (Fig. 31—33, Taf. IV), wo [abgesehen von der Verteilung der Nucleolarsubstanz durch den wachsenden Kern] ein faktisches »Abschmelzen« der Nucleolarsubstanz zu beobachten ist.

Am deutlichsten zeigt sich aber dieser »Verbrauch« der Nucleolarsubstanz während des Eiwachstums beim *Melamphaës*-Ei. Die in Fig. 114, Taf. VII, noch dicken Nucleolenstränge sind bei weiterem Wachstum zu dünnen Achter- usw. Figuren abgeschmolzen (Fig. 115, Taf. VII). Ja, bei *Melamphaës nigrescens* (Fig. 124 u. 125, Taf. VII) führt dieser Abbau sogar zu einem vollständigen Schwund der Nucleolarsubstanz, so daß wir hier den sehr seltenen Fall vor uns haben, daß überhaupt keine Nucleolarsubstanz mehr im Kern existiert.

Zwar könnte man bei Randnucleolen immer einwenden, daß die Nucleolarsubstanz bei ihrem Verschwinden als »unbrauchbar« aus dem Kern ausgeschwitzt wird[1]). Diese Ausrede ist aber nicht angängig beim *Melamphaës*-Ei, wo die im ganzen Kern verstreuten Nucleolenstränge allmählich abgeschmolzen, verbraucht werden.

3. Ein dritter Tatsachenkomplex, der für die tatsächliche Funktion der Nucleolarsubstanz und für ihren Verbrauch spricht, ist die allmähliche Veränderung, die sie während des Eiwachstums erfährt:

a) eine färberische; indem die anfangs stark basichromatischen Nucleolen allmählich ihre starke Affinität zu basischen Farben einbüßen (siehe z. B. *Eutimium* [Fig. 14, Taf. IV],

Sagitta [Fig. 31—33, Taf. IV],
Scolopendra [Fig. 50—52, Taf. V],
Patella rota [Fig. 138 u. 139, Taf. VIII],

---

[1]) Wie das in der Tat von Popoff (07) S. 68 für *Paludina* angegeben wird.

Beobachtungen, die auch BÖHMIG [89], RHODE [03], ZACHARIAS [10], STAUFFACHER [11] u. a. gemacht haben);

b) eine chemische. Während die jüngsten Stadien mit Pepsinsalzsäure unverdaulich sind, werden die älteren Nucleolen gegen Ende des Wachstums zu immer leichter löslich.

Auch diese färberische und chemische Änderung der Nucleolarsubstanz beweist uns, daß sie kein passives Stoffwechselprodukt, sondern eine während des Eiwachstums funktionierende und sich dabei ändernde Substanz ist, die allmählich verbraucht wird.

4. Für ihre Aktivität spricht nun zu guter Letzt auch noch ihre Intimstruktur. Man begegnet häufig noch der Auffassung, daß die Nucleolen der Eizelle unstrukturierte Flüssigkeitströpfchen sind. So schreibt z. B. HÄCKER (99) in seinem Lehrbuch:

»Zusammengenommen würden also die Befunde an Amphibien- und Haifisch-Keimbläschen dafür sprechen, daß die Nucleolen wenigstens dieser Kerne als nicht strukturierte Flüssigkeitströpfchen, vielleicht als secretartige Abspaltungsprodukte an oder in den Chromatinfäden ihre Entstehung nehmen, unter allmählicher Vergrößerung vielleicht schubweise gegen die Kernmembran getrieben werden und schließlich in unsern Fällen noch vor Beginn der Kernteilung der Auflösung anheimfallen.«

Ich[1]) habe mir schon in meiner *Proteus*-Arbeit die Mühe gemacht, von den jüngsten Stadien an die vacuolige Beschaffenheit der an der Peripherie entstehenden Nucleolen nachzuweisen (siehe auch Textfig. 9, S. 34).

Man kann wohl sagen, daß alle Nucleolarsubstanz im Eikern anfangs geringe, im Laufe des Kern- und ihres eignen Wachstums größere Vacuolisation aufweist. Ich mache hier aufmerksam auf die

Fig. 11—14, Taf. IV (*Eutimium*),
» 26—28, » IV (*Obelia*),
» 31—33, » IV (*Sagitta*),
» 41—43, » V (*Himentaria*),
» 54—56, » V (*Blatta*),
» 126—128, Taf. VII (*Bdellostoma*),
» 141*a*, 152, 175, 177 u. a., Taf. VIII—IX (*Patella*).

Was diese Vacuolensubstanz bedeutet, können wir nicht sagen; jedenfalls geht ihre Entwicklung parallel zur Vergrößerung der Nucleolen und zu ihrer abnehmenden Basizität und ist deshalb für uns ein weiterer

[1]) Auf die Verwechslung der beiden Nucleolarsubstanzen, die HÄCKER untergelaufen ist, habe ich schon oben aufmerksam gemacht.

morphologischer Beweis für die funktionelle Tätigkeit der Nucleolarsubstanz im wachsenden Ei.

Fassen wir zum Schluß unsre morphologischen Ergebnisse, die zur Lösung des Problems vom Riesenwachstum des Eies beitragen können, zusammen:

I.

Die Größe des Eikernes (im Vergleich zum Plasma) hängt von den Ernährungsvorrichtungen des Eies ab.

a) Gut von Nähr- und Follikelzellen ernährte Eier besitzen auffallend kleine Kerne.

b) Eier ohne extracelluläre Nährvorrichtungen besitzen (im Vergleich zum Plasma) bedeutend größere Kerne.

a) Für das Eiwachstum der nutrimentär wachsenden Eier sind demnach in der Hauptsache die Nähr- bzw. Follikelzellen verantwortlich zu machen. Der Kern ist jedenfalls in vielen Fällen nur der Überträger der Erbeinheiten — wenn ihn auch in andern Fällen die eintretende Massenzunahme seiner Nucleolarsubstanz (*Nephelis*, *Scolopendra*, *Decticus*, *Gryllotalpa*, *Gryllus* u. a.) an dem Eiwachstum nicht ganz unbeteiligt erscheinen läßt.

b) Bei den Eizellen ohne Nährvorrichtungen müssen wir in der Hauptsache den im Vergleich zum Plasma bedeutend herangewachsenen Kern für das Eiwachstum verantwortlich machen. Die Kernplasmarelation der sogenannten nucleär wachsenden Eier ist immer zugunsten des Kernes verschoben.

Die Ausbildung specifischer Massen von trophischem Chromatin (in Gestalt reichlicher Mengen von chromosomaler und nucleolärer Substanz) konnte jedoch bei diesem nucleären Eiwachstumstyp nicht gefunden werden.

II.

Weiterhin ist es auch nicht unwahrscheinlich, daß das Plasma der wachsenden Eizelle eine bestimmte Rolle beim Wachstum spielt. Besonders in nucleär wachsenden Eiern findet sich auf jungen Stadien ein stark basichromatisches Plasma (ähnlich dem der Drüsenzellen von *Piscicola*). Es ist wahrscheinlich, daß dieses specifische, basichromatische Plasma, das unverdaulich ist, infolge seines starken Nucleinsäuregehaltes das Plasmawachstum begünstigt. Künftige Untersuchungen haben seinen Phosphorgehalt, seinen Bestand an Eisen, seine oxydative Fähigkeit nachzuweisen. Sicher ist aber schon jetzt, daß es — wie das

basichromatische Prosecret der *Piscicola*-Drüsen — bei der Ausarbeitung der Dottersubstanzen beteiligt ist und dabei verbraucht wird. Sicher ist ferner, daß es nicht aus dem Kern kommt, sondern im Plasma selbst entsteht, wie das schon GIARDINA (01) behauptet hat.

III.

Während des Eiwachstums erfahren die beiden Hauptkernkomponenten, die Chromosome und Nucleolen eine bedeutsame Reaktionsänderung.

a) Die während der Mitose basichromatischen Chromosome lösen sich nach dem Bukett, während des diplotenen und dictyenen Stadiums in rein oxychromatische Strukturen auf.

In welchem Verhältnis diese Reaktionsumkehr zum Eiwachstum steht, können wir nicht mit Sicherheit angeben. Da aber im arbeitenden »Ruhekern« die Menge der oxychromatischen Chromosomensubstanz immer auf Kosten der basichromatischen zunimmt, so können wir die reine oxychromatische Reaktion der Chromosome während des Eiwachstums als ihre reine Arbeitsstruktur bezeichnen und mit dem Eiwachstum selbst in Beziehung bringen.

b) Der basichromatische Bestandteil, der — wie in jedem Kern — so auch im Eikern vorhanden ist, wird durch die Nucleolen repräsentiert. Ihnen ist gewidmet der Abschnitt

IV.

Die Nucleolen

a) der mono- und polynucleolären Eikerne färben sich intensiv mit basischen Chromatinfarben (im Gegensatz zu den oxychromatischen Nucleolen der Gewebszellen). Diese färberische Reaktion läßt aber verschiedene Arten von Nucleolarsubstanzen gleichartig erscheinen. Bei Pepsinsalzsäureverdauung löst sich diese Kategorie der »Chromatinnucleolen« auf in

1. dauernd unverdauliche,
2. anfangs unverdauliche, die sich später auflösen,
3. sofort verdauliche.

Die Eier vieler Tierklassen, besonders aber die der Mollusken besitzen zwei, *Patella* sogar dreierlei Nucleolarsubstanzen.

Auch die »Ersatz«-Nucleolarsubstanzen des *Dytiscus*-Eies (= GIARDINAsche Körper); des *Gryllus*-Eies (= accessorisches Chromosom?) und des *Sagitta*-Eies (?) sind basichromatisch.

b) Weder die Nucleolen mono- noch die polynucleolärer Eikerne stehen in morphologischem Zusammenhang mit den Chromosomen. [Eine Ausnahme bilden die beim Abschmelzen der Chromosome auftretenden »Abschmelzungsnucleolen«, die Chromatintröpfchen, aber keine Einucleolen sind.]

c) Die Nucleolen entstehen immer im Kern selbst. Die Angaben MONTGOMERYS (99) und BUCHNERS (10) von der Wanderung der im Plasma verstreuten Mitochondrien in den Kern und ihre dortige Umbildung zu Randnucleolen, müssen wir als nicht bewiesen ablehnen.

d) In jugendlichen Eikernen ist in der Regel nur ein Nucleolus vorhanden. Während des Eiwachstums kann dieser sich vermehren; muß es aber nicht. Die Art der Vermehrung bzw. der Massenzunahme ist höchst verschiedenartig. Alle denkbaren Modi sind hierbei verwirklicht. Die Nucleolen können

1. spontan in großer Menge auftreten.
   Dieser Fall findet sich besonders oft verwirklicht bei den »Randnucleolen«, die nicht nur auf Fische und Amphibien beschränkt sind, sondern sich auch finden bei

   Würmern (Nemertinen).
   Crustaceen (*Astacus*),
   Insekten (*Decticus*),
   Lungenfischen (Lepidosiren).

2. Der Nucleolus kann Knospen abgeben, oder in größere globulitische bis feinkörnige Massen zerfallen.
3. Die Nucleolen können amöbenartig in oder an der Kernmembran auseinanderfließen.
4. Oder sie können zu bandartigen, rosenkranzförmigen oder chromosomenähnlichen Strängen auswachsen

e) Die Masse und Struktur der Nucleolarsubstanz ist unabhängig von
1. der Masse der im Eikern vorhandenen oxychromatischen Chromosomen,
2. dem Wachstum des Eikernes und der Intensität des Stoffwechsels zwischen Kern und Zelle,
3. der Zellgröße und dem Dotterreichtum,
4. der Ernährung des Eies, ob nucleärer oder nutrimentärer Wachstumstypus,
5. der systematischen Stellung des betreffenden Tieres.

Ich brauche wohl nicht darauf hinzuweisen, daß diese große Specifizität der Nucleolarsubstanzen, die sich bei gleich großen Kernen naher verwandter Formen in ganz enormen Massenschwankungen bemerkbar macht, ganz außerordentlich erschwert:

α) die zahlenmäßige Feststellung der Kernplasma- oder besser der »Chromatin«-Plasmarelation, das Massenverhältnis des Kernes und seiner Komponenten einer-, zum Massenverhältnis des Plasmas anderseits.

β) eine exakte Vorstellung über die Funktion der Nucleolarsubstanz.

f) Nur eines glauben wir mit Sicherheit sagen zu können: Die Nucleolarsubstanz ist ein während des Eiwachstums funktionierendes Zellorganell; sie ist kein wertloses Stoffwechselprodukt. Darauf weist hin

1. ihre funktionelle Struktur bei gleichzeitiger großer Massenzunahme (ihr körniger Zerfall. ihre flächenhafte Ausbreitung und ihre strangförmige Oberflächenvergrößerung);
2. ihre anfängliche Zunahme und ihr späteres »Verbrauchtwerden«[1];
3. ihre färberische und chemische Änderung während des Eiwachstums.

   Sie büßt ihre Basizität zum Teil ein[1]). Anfänglich unverdaulich, wird sie später in Pepsin löslich;
4. ihre zunehmende vacuolige Beschaffenheit.

Dabei bin ich persönlich davon überzeugt, daß die Nucleolen in den Eiern verschiedener Tiere auch eine ganz verschiedene chemische Zusammensetzung haben und daher überhaupt nicht miteinander zu vergleichen sind. Diese Annahme beweisen

1. die ganz specifische, oft entgegengesetzt extreme Ausbildung der Nucleolen bei nahe verwandten Formen, bei denen die betreffenden Eier die gleiche Größe erreichen und die gleichen Nähreinrichtungen besitzen;
2. die Verdauungsanalysen; diese zeigten auf das deutlichste, daß die Nucleolen verschiedener Formen trotz ihres völlig gleichen, färberischen Verhaltens beträchtliche Differenzen in ihrem chemischen Aufbau besaßen.

---

[1]) Hierin verhalten sich die Einucleolen im Prinzip so wie die aller wachsenden Zellen. »Der Nucleolus der Kerne wachsender Zellen wächst zunächst ziemlich rasch, um zuerst schneller, dann langsamer an Größe abzunehmen.« Die Vergrößerung der Nucleolarsubstanz erfolgt nicht durch Wasseraufnahme, sondern durch Aufnahme andrer Stoffe. Der Chromatingehalt und die Tinktionsfähigkeit ist in jüngeren Kernen größer als in älteren. (Nach Schwarz und Zacharias [09, S. 245]).

Weitere Vorstellungen bezüglich der speziellen Funktionen der Nucleolarsubstanzen sind vorderhand noch verfrüht.

Erst müssen wir eine größere Anzahl von Objekten mit den verschiedensten Anordnungen der Nucleolarsubstanz nicht nur morphologisch beschrieben, sondern vergleichend physiologisch eingegrenzt haben bezüglich ihres Gehaltes an Phosphor (Reservestoffspeicher!), an Eisen (Oxydationscentra!) und bezüglich ihres Verhaltens gegenüber den verschiedensten »Chromatinreagentien«.

Erst wenn wir in dieser Weise die Nucleolarsubstanz — sowohl während der Entwicklungsgeschichte eines Eies wie auch vergleichend bei vielen Species (besonders bei nahe Verwandten) — studiert haben, können wir uns auf Grund dieser physiologischen Befunde ein sachliches Urteil über die specifische Funktion der Nucleolarsubstanz bilden. Bis dahin müssen wir aber alle diesbezüglichen Äußerungen als in das Gebiet der Phantasie gehörig ablehnen, wie wir das im besonderen ja oben gezeigt haben.

Es gibt bei den vorliegenden Problemen des Eiwachstums und bei der Frage nach der Funktion der Nucleolarsubstanz noch viele Imponderabilien, die bei der reinen morphologischen Betrachtungsweise bisher stets unberücksichtigt geblieben sind. Zum Beispiel:

1. Die Differenzen in der Zeitdauer des Eiwachstums. Es leuchtet doch ein, daß ein Ei, wie z. B. ein Medusen- oder *Sagitta*-Ei, das in wenigen Stunden heranwächst, einen ganz andern Stoffwechsel hat und dazu einer ganz andern Ausbildung seiner cellulären Organellen bedarf, als ein Jahre lang wachsendes Fisch- oder Amphibienei.

2. Sehr schwer sind häufig die Ernährungsverhältnisse des betreffenden Eies zu präzisieren. Die Lage am Darm, in der Leibeshöhlenflüssigkeit, in der Nähe des Nährbreies abortiver Eizellen usw. kann bei dem Wachstum des betreffenden Eikernes und bei der Ausbildung der Nucleolarsubstanzen eine Rolle spielen, die man in jedem Falle feststellen muß; häufig aber nicht bestimmen kann.

Diese »sekundären Ernährungsfaktoren« können weiterhin noch kompliziert werden durch aktives Fressen von seiten der Eizelle (Sykon), die erreichbare junge Eizellen chromatolysiert und dann dem eignen Plasma einverleibt; oder durch Zusammenfließen mehrerer Eier zu einem einzigen Ei (*Tubularia*, Doflein; *Dinophilus*, v. Malsen; u. a. m.).

3. Zu wenig ist bisher auch das Verhältnis der basichromatischen Nucleolarsubstanz einer- zum basichromatischen Eiplasma andrerseits berücksichtigt worden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß sich zwischen

diesen beiden Körpern, als den einzigen Nucleoproteiden des wachsenden Eies, sei es parallel gerichtete — sei es reziproke Beziehungen feststellen lassen.

München, November 1911.

Literaturverzeichnis.

Ancel. (1902.) Histogenèse et structure de la glande hermaphrodite d'Helix pomatia. Arch. d. Biologie. T. XIX.

Bambecke, van. (1897.) Recherches sur l'ovocyte de Pholcus phalangoides. Arch. de Biologie. T. XV.

Beneden, E. van. (1870.) Recherches sur le développement des Crustacés (Sacculina). Bull. Acad. Roy. Sc. Belg. 2e sér. T. XXIX.

Böhmig. (1898.) Beiträge zur Anatomie und Histologie der Nemertinen. Zeitschr. f. wiss. Zool. LXIV.

Born, G. (1894.) Die Struktur des Keimbläschens im Ovarialei von Triton taeniatus. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIII.

Boveri, Th. (1904.) Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkernes. Fischer, Jena.

Brauer, A. (1892.) Über das Ei von Branchipus Grubei von der Bildung bis zur Ablage. Abh. Berliner Akad. 1892.

Brandt, Alex. (1878.) Über das Ei und seine Bildungsstelle. Leipzig.

Buchner, P. (1909.) Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

—— (1910.) Zur Bedeutung der Heterochromosome. Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

—— (1910.) Die Schicksale des Keimplasmas der Sagitten in Reifung, Befruchtung, Keimbahn, Spermatogenese und Ovogenese. Festschrift R. Hertwig. Jena.

Bouin, M. (1910.) Histogenèse de la glande femelle chez Rana temporaria. Arch. de Biologie. T. XVII.

Carnoy et Lebrun. (1897—1903.) La Cytodiérèse de l'œuf. La Cellule.

Claypole. (1898.) The embryology and ovogenesis of Anurida maritima. Journ. of Morph. Vol. XIV.

Debaisieux, P. (1909.) Les débuts de l'ovogénèse dans le Dytiscus marginalis. La Cellule. T. XXV.

Delage, Y. (1884.) Evolution de la Sacculine. Arch. Zool. Exp. Gén. (2.) T. II.

Dons, C. (1909.) Beitrag zur Kenntnis der Entwicklung des Eis von Tomopteris. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

Duesberg, J. (1910.) Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Elpatiewsky, W. (1910.) Die Entwicklungsgeschichte der Genitalprodukte bei Sagitta. »Biologische Zeitschrift« Moskau. Bd. I.

Farmer and Moore. (1905.) On the Maiotic Phase (Reduction Divisions) in Animals and Plants. Quart. Journ. of micr. Sc. N. S. Vol. XLVIII.

Flemming, W. (1882.) Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig.

Floderus, M. (1896.) Über die Bildung der Follikelhüllen bei den Ascidien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXI.

Fischer, A. (1899.) Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Fischer, Jena.
Giardina, A. (1901.) Origine dell'oocite e delle cellule nutrici nel Dytiscus. Internationale Monatsschrift für Anatomie und Physiologie. Bd. XVIII.
Gross, J. (1903.) Untersuchungen über die Histologie des Insektenovars. Zool. Jahrb. Bd. XVIII.
Goldschmidt, R. (1902.) Untersuchungen über Eireifung, Befruchtung und Zellteilung von Polystomum integerrimum. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXI.
—— (1904.) Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXI.
Günther, K. (1904.) Über den Nucleolus im reifenden Echinodermenei und seine Bedeutung. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XIX.
Günthert, Th. (1910.) Die Eibildung der Dytisciden. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXX.
Häcker, V. (1892.) Die Eibildung bei Cyklops und Canthocamptus. Zool. Jahrb. Bd. V.
—— (1893.) Das Keimblättchen, seine Elemente und Lageveränderungen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLII.
—— (1895.) Die Vorstadien der Eireifung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLV.
—— (1899.) Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre. Jena.
—— (1907.) Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergebn. u. Fortsch. d. Zoologie. Bd. I.
—— (1911.) Allgemeine Vererbungslehre. Vieweg, Braunschweig.
Hartmann, M. (1902.) Studien am tierischen Ei. Zool. Jahrb. (Anat.) Bd. XV.
Heidenhain, M. (1890.) Beiträge zur Topographie und Histologie der Cloake und ihrer drüsigen Adnexa bei Tritonen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXV.
—— (1907.) Plasma und Zelle. Fischer, Jena.
Herbst, C. (1896.) Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß usw. auf die Entwicklung der Tiere. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. II.
—— (1897.) Die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorgan. Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. V.
Hertwig, R. (1898). Über die Bedeutung der Nucleolen. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München. Bd. XIV.
—— (1898.) Über Kernteilung usw. bei Actinosphaerium Eichhorni. Abhandl. d. K. bayer. Akad. d. Wissensch. II. Kl. Bd. XIX. Abt. III.
—— (1902.) Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. I.
—— (1903.) Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. XXIII.
—— (1908.) Über neue Probleme der Zellenlehre. Arch. f. Zellforsch. Bd. I.
Henschen, F. (1903.) Zur Struktur der Eizellen gewisser Crustaceen und Arthropoden. Anat. Anz. Bd. XXIV.
Jörgensen, M. (1908.) Untersuchungen über die Eibildung bei Nephelis. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.
—— (1910.) Beiträge zur Kenntnis der Eibildung usw. bei Schwämmen (Sykonen). Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.
—— (1910.) Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von Proteus anguineus. Festschr. R. Hertwig. Jena. Bd. I.
—— (1912.) Die Ei- und Nährzellen von Piscicola.

Jörgensen, M. (1912.) Beitrag znr Lehre vom Chromidialapparat. Nach Untersuchungen an Drüsenzellen von Piscicola.

Jordan, E. O. (1893.) The habits and development of the newt. Journ. of Morph. Bd. Vol. VIII.

Jordan, H. E. (1907.) On the Relation between Nucleolus and Chromosomes in the Maturing Oocyte of Asterias Forbesii. Anat. Anz. Bd. XXXI.

—— (1908.) The relation of the nucleolus to the chromosomes in the primary oocyte of Asterias Forbesii. Publ. Carneg. Inst. Vol. CII.

—— The germinal spot in Echinodermeggs. Ebenda. Vol. CII.

Kemnitz, G. A. v. (1912.) Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Archiv f. Zellforsch. Bd. VII.

King, H. D. (1908.) The oögenesis of Bufo lentiginosus. Journal of Morph. Vol. XIX.

Korschelt, E. (1889). Beiträge zur Anatomie nnd Physiologie des Zellkerns. Zool. Jahrb., Abt. Anat. Bd. III.

—— (1893.) Über Ophryotrocha puerilis usw. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LVII.

Kühn, A. (1908.) Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Cladoceren Daphnia u. Polyphemus. Arch. f. Zellforsch. Bd. I.

Lams, H. (1907.) Contribution à l'étude de la genèse du vitellus dans l'ovule des Amphibiens (Rana temp.). Arch. d'Anat. microsc. T. IX.

—— (1910.) Recherches sur l'œuf d'Arion empiricorum. Mémoires in 4° publiés par la Classe des Sciences de l'Académie Royale de Belgique. T. II.

Levi, G. (1905.) Snlla differenziazione delle gonocite e dell' ovocite degli Anfibi con speciale riguardo alle modificazioni della vesicula germinativa. Arch. di Anatomia e di Embryologia. Firenze.

Lécaillon. (1901.) Recherches sur l'ovaire des Collemboles. Arch. d'Anat. microsc. T. IV.

Lilienfeld. (1892.) Über die Wahlverwandtschaft der Zellelemente zu gewissen Farbstoffen. Verh. d. physiol. Gesellsch. Berlin 1892/93.

List. (1897.) Beiträge zur Chemie der Zelle und Gewebe. 1. Über die Färbung tierischer Gewebe mit Berliner Blau. Mitt. der zool. Station zu Neapel. Bd. XII.

Lubosch, W. (1902.) Über die Nucleolarsubstanz des reifenden Tritoneies. Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XXXVII (N. F. Bd. XXX).

—— (1902.) Über die Eireifung der Metazoen, insbesondere über die Rolle der Nucleolarsubstanz und die Erscheinungen der Dotterbildung. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. XI.

Maas, O. (1911.) Die Tatsachen der vergl. Anatomie und Entwicklungsgeschichte und die Abstammungslehre. aus »Die Abstammungslehre«. 12 Vorträge. Fischer, Jena.

Mathews, A. P. (1898.) A Contribution to the Chemistry of Cytological Staining. Am. Journ. Phys. I. 4.

Marcus, H. (1906.) Ei- nnd Samenreife bei Ascaris canis. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII.

Maréchal, J. (1906.) Sur l'ovogénèse des Selaciens etc. La Cellule. T. XXIV.

Mc. Gill, C. (1906.) The behaviour of the nucleoli during Ovogenesis of the Dragon-fly with especial reference to synapsis. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXIII.

Montgomery, Th. H. (1899.) Comparative Cytological Studies, with especial Regard to the Morphology of the Nucleolus. Journ. of Morph. Vol. XV.

Montgomery, Th. H. (1906.) Chromosomes in the Spermatogenesis of the Hemiptera Heteroptera. Trans. Amer. phil. Soc. N. S. Vol. XXI.

Nemec, B. (1910.) Das Problem der Befruchtungsvorgänge usw. Bornträger, Berlin.

Obst, P. (1899.) Untersuchungen über das Verhalten der Nucleolarsubstanz bei der Eibildung einiger Mollusken und Arachnoiden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXVI.

Oes, A. (1908.) Über die Autolyse der Mitosen. Botan. Ztg.

Paulcke, W. (1900.) Über die Differenzierung der Zellelemente im Ovarium der Bienenkönigin (Apis mellifica). Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XIV.

Popoff, M. (1907.) Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Reuter, E. (1909.) Merokinesis, ein neuer Kernteilungsmodus. Acta Societatis Scientiarum Finnicae. T. XXXVII.

Rhumbler, L. (1893.) Über Entstehung und Bedeutung der in den Kernen vieler Protozoen und im Keimbläschen von Metazoen vorkommenden Binnenkörper (Nucleolen usw.). Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LVI.

Rohde, E. (1903.) Untersuchungen über den Bau der Zelle. I. Kern und Kernkörper. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIII.

Rückert, J. (1892.) Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies der Selachier. Anat. Anz. Bd. VII.

Schaxel, J. (1909.) Die Morphologie des Eiwachstums und der Follikelbildungen bei den Ascidien. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

—— (1910.) Die Eibildung der Meduse Pelagia noctiluca usw. Festschr. R. Hertwig. 1. Bd. Fischer, Jena.

—— (1910.) Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung und ersten Organbildung der Echinodermen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV.

Schokaert. (1900.) Nouvelles recherches sur la maturation de l'ovocyte de première ordre du Tysanozoon Brochii. Anat. Anz. Bd. XVIII.

Spengel, J. W. (1879.) Beiträge zur Kenntnis der Gephyreen. I. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. I.

Stevens, N. M. (1910.) Further studies on reproduction in Sagitta. Journ. Morph. XXI. 1910.

Stauffacher, H. (1894.) Eibildung und Furchung von Cyclas cornea. Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. XXVIII.

—— (1911.) Neue Beobachtungen auf dem Gebiete der Zelle usw. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCVIII.

Stuhlmann, Fr. (1886.) Die Reifung des Arthropodeneies. Berichte d. naturf. Gesellsch. Freiburg. Bd. I.

Strasburger, E. (1907.) Die Ontogenie der Zelle seit 1875. Biol. Centralbl. Progr. rei bot. I.

Stricht, van der. (1905.) La structure de l'œuf des Mammifères. II. Part. Bull. de l'Acad. R. d. Méd. de Belgique.

Trinci, G. (1906.) Studii sull'oocite dei Celenterati durante il periodo di crescita. Arch. di Anatomia e di Embryologia. Firenze. Vol. V.

Toenniges. (1902.) Beiträge zur Spermatogenese und Ovogenese der Myriopoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXI.

Veydovsky, Fr. (1907.) Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Verh. d. k. böhm. Ges. d. Wiss. Prag.

Walker, Ch. E. (1907.) The Essentials of Cytology. London.
Wilson, Ed. (1901.) Experimental studies in cytology I. u. II. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. XII und XIII.
Zacharias, E. (1885.) Über den Nucleolus. Bot. Zeitung. Bd. XLIII.
—— (1910). Die chem. Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. Progress. rei botanicae. Bd. III

Tafelerklärung.

Tafel I.

Die verschiedenen Entwicklungsstadien der Eier ein- und desselben Tieres sind — des Vergleiches wegen — immer bei derselben Vergrößerung gezeichnet.

Nutrimentäres Eiwachstum.

I. Nährzelleinrichtungen.

Fig. 1—3. Wachsende Eizellen von *Ophyotrocha* mit einer Nährzelle. Der Eikern bleibt gleich groß (nach Korschelt, 93).

Fig. 4—6. Nährkammer von *Apus* mit je drei Nährzellen. Eizelle mit indifferentem Keimbläschen (nach Ludwig, 74).

Fig. 7—9. *Piscicola*-Nährfach mit etwa 50 abortiven Eiern (= Nährzellen). Der Eikern beteiligt sich nicht am Eiwachstum (nach Jörgensen, 12).

Fig. 10. Eientwicklungsstadien von *Branchipus*, die völlige Passivität des Eikernes zeigend (nach Brauer, 92).

Fig. 11 u. 12. *Bonellia* mit Nährfach und »Centralzelle«. Der Eikern bleibt beim Wachstum klein (nach Spengel, 79).

Fig. 13—15. Eientwicklungsstadien von *Nephelis*. Das Ei wächst auf Kosten der abortiven Ei-(= Nähr-)zellen heran. Der Eikern verhältnismäßig inaktiv.

Fig. 16 u. 17. Eier mit Nährzellsträngen von Polychäten (*Diopatra*) und parasitischen Copepoden (*Notopterophorus*) nach Korschelt und Heider, 1902.

II. Follikuläre Ernährung des Eies.

Fig. 18—21. *Oktopus*-Eientwicklungsstadien. Der Eikern wächst nur wenig. Der Follikel sendet tiefe Falten in das Ei (Original).

Fig. 22—24. Eiröhren von Orthopteren, Coleopteren und Hemipteren mit ihren verschiedenen Nähreinrichtungen. Der Eikern bleibt überall ziemlich klein. (Korschelt und Heider, 1902.)

Fig. 25. Eiröhre von *Forficula* mit Follikel und je einer Nährzelle für das Ei. Der Eikern völlig passiv (nach Korschelt, 1902).

Fig. 26 u. 27. Ei- und Nährfächer der Biene. Nährzellen und Follikelepithel riesig entwickelt. Der Eikern bleibt winzig klein und inaktiv (nach Paulke, 1900).

Tafel II.

Die verschiedenen Entwicklungsstadien der Eier ein und desselben Tieres sind — des Vergleiches wegen — immer bei derselben Vergrößerung gezeichnet.

Solitäres Eiwachstum.

Fig. 1—3. Schwämme: Sykonoocyten mit proportional dem Eiwachstum zunehmendem Kern (nach Jörgensen, 1910a).

Fig. 4—7. Cölenteraten: Ei- und Kernwachstum von *Pelagia* (Original).

Fig. 8—11. Würmer: Im wachsenden *Sagitta*-Ei nimmt der Kern gleichfalls bedeutend an Volumen zu (Original).

Fig. 12—15. Echinodermen: Die gleiche Parallelität zwischen Zell- und Kernwachstum ist bei *Asterias* nachzuweisen (Original).

Fig. 16—18. Arthropoden: Anfangs solitäres, dann follikuläres Eiwachstum von *Gryllus* (Original).

Fig. 19—21. Mollusken: Auch bei *Paludina* ist eine große Volumenzunahme des Kernes beim Eiwachstum zu konstatieren.

Fig. 22—25. — Das gleiche findet sich bei *Patella*.

Fig. 26—29. Wirbeltiere: Das *Proteus*-Ei zeigt während seiner ersten solitären Wachstumsperiode eine große Zunahme seines Kernes und seiner chromosomalen Substanzen, die später wieder abgeschmolzen werden.

Tafel IIIa.

Entwicklungsserie des *Patella*-Eies. Fixierung: Sublimat. Färbung: E.H. Vergrößerung: 700×. Alle Fig. auf Objekttischhöhe projiziert.

I. Ergastoplasmatische Substanz des solitär wachsenden *Patella*-Eies.

Fig. 1—3. Das Ergastoplasma in brockiger und strangförmiger Anordnung in jüngsten Oocyten.

Fig. 4 u. 5. Seine diffuse Verteilung in der wachsenden Eizelle.

Fig. 6. Erstes Auftreten der großen Dotter-(Eiweiß-)granula mit dazwischen verstreuten Ergastoplasmakörnchen.

Fig. 7. Fast ausgewachsenes Ei mit regelmäßig verteiltem körnigem Ergastoplasma und definitiven Dottergranula.

Fig. 8. Ausschnitt aus der Eiperipherie. Zona radiata: ein Differenzierungsprodukt des Eiplasmas. Zwischen den großen Dottergranula die Körnchen des ersten Ergastoplasmas. (Vergrößerung: 1080×).

Tafel IIIb.

Fixierung: Sublimat. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 700×.

II. Basophiles Ergastoplasma (Prosecret) des *Patella*-Eies.

Fig. 1. Junge Oocyte mit oxychromatischem Plasma.

Fig. 2. Diffuse chromatische Verfärbung des Eiplasmas.

Fig. 3. Dieses stark basichromatisch tingiert durch Einlagerung eines wahrscheinlich nucleinsäurehaltigen Prosecrets. Erstes Auftreten der großen definitiven Dottergranula.

Fig. 4 u. 5. Allmähliche Verarbeitung des basophilen Ergastoplasmas zu Eiweißgranula.

Fig. 6. Die »angefressenen« Prosecretreste nach Entfernung der Dottergranula.

Fig. 7. Letzte Reste des basophilen Ergastoplasmas am Kern und an der Zellperipherie. Plasma mit »Dotter« angefüllt.

Tafel IV.

I. Serie einer *Proteus*-Spermatogonienmitose zur Demonstration des cyklischen Wechsels von Oxy-Basichromatin im Kern.

Fixierung: Sublimat-5%iger Eisessig. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 1080×.

Fig. 1. Ruhender Spermatogonienkern mit viel oxychromatischen »Linin«-fäden und Kernsaft und wenigen, unregelmäßigen, basophilen Chromatinbrocken.

Fig. 2. Frühe Prophase. Das Basichromatin hat sich vermehrt und zu unregelmäßig konturierten Strängen zusammengeschlossen.

Fig. 3. Stark basichromatisches Spirem. Das Oxychromatin des Kernes ist verschwunden. Längsspalt zeichnerisch vernachlässigt.

Fig. 4 u. 5. Meta- und Anaphase der Spermatogonienmitose. Das gesamte »Chromatin« ist auf die stark basophilen Chromosome beschränkt. Längsspalt nicht wiedergegeben.

Fig. 6 u. 7. Allmähliche Rekonstruktion des Ruhekernes. Zunahme des Oxy- auf Kosten des Basichromatins (Fig. 7).

II. *Triton*-Ovocyten zur Demonstration des kritischen Stadiums des Reaktionswechsels der Chromosome im wachsenden Eikern.

Fixierung: Sublimat-5%iger Eisessig. Junges Tier im September. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 1080×.

Fig. 8. Bukettstadium mit intensiv basichromatischen Chromosomen. Nucleolen nicht vorhanden.

Fig. 9. Dictyenes Stadium der Bukettauflösung. Die Chromosome haben zum größten Teil ihre Basichromatizität eingebüßt. Spontanes Auftreten zahlreicher basophiler Randnucleolen.

Fig. 10. Die im Kern gleichmäßig verteilten Chromosome fast rein oxychromatisch. Die letzten Reste des Basichromatins schwinden bald darauf. Wachstum der basophilen Randnucleolen.

A. Cölenteraten.

Leptomedusen.

Eutimium elephas.

Fixierung: Formol. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 1080×.

Fig. 11—14. Allmähliches Wachstum des mononucleären Eikernes, dessen Chromosome sich wie die Kerngrundsubstanz oxychromatisch, dessen Nucleolen sich basichromatisch färben. Die Nucleolen nehmen riesig an Größe zu, vacuolisieren sich und büßen gegen Ende des Wachstums ihre frühere starke Basophilie ein.

Obelia geniculata.

Fixierung: Formol. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 1080×.

Der in Einzahl vorhandene basichromatische Nucleolus wächst zu zahlreichen, strangförmigen, chromosomenartigen Gebilden heran, die sich später zu zahlreichen Nucleolen konzentrieren. Die oxychromatischen Chromosome sind daneben dauernd vorhanden.

Fig. 15. Homogener Nucleolus.

Fig. 16 u. 17. Dessen allmähliche Vacuolisierung und

Fig. 17—19 Umwandlung in ein unregelmäßiges globulistisches Band. Die oxychromatischen Chromosome vorhanden.

Fig. 20 u. 21. Zerfall dieses Nucleolenbandes in mehrere Bruchstücke. Die oxychromatischen Chromosome sind nachweisbar.

Fig. 22—25. Zahlreiche Achter-, Kreuz- usw. Figuren der strangförmig ausgezogenen basichromatischen Nucleolarsubstanz. Dauernd sind daneben die oxychromatischen Chromosome vorhanden.

Fig. 26—28. Allmähliche Konzentration der Nucleolarsubstanz zu kompakten Ringen (26), rosenkranzförmigen Gebilden (27) und schließlich isolierten, vacuoligen Nucleolen. Die Chromosome sind dauernd vorhanden und oxychromatisch.

B. Würmer.

Sagitta.

Fixierung: Sublimat-Seewasser-Eisessig. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 1080×.

Auch die »Ersatz«-Nucleolarsubstanz des *Sagitta*-Eies zeigt die basichromatische Reaktion. Die oxychromatischen Chromosome sind dauernd sichtbar.

Oberflächenbilder.

Fig. 29 u. 30. Die polymorphen Nucleolen, die eine große Adhäsion an die Kernmembran zeigen, wachsen zu strangförmigen Gebilden aus.

Fig. 31. Es bilden sich zwei Modifikationen der Nucleolarsubstanz aus; eine heller gefärbte Nucleolargrundsubstanz, in der intensiver gefärbte polymorphe Nucleolen suspendiert sind.

Fig. 32 u. 33. Die Nucleolargrundsubstanz wird allmählich verbraucht. Die intensiver gefärbte Nucleolarsubstanz verliert gleichfalls ihre große Basichromatizität, wird vacuolisiert und schwindet gleichfalls mehr und mehr.

Querschnittsbilder.

Fig. 34. Junge Oocyte mit zahlreichen basichromatischen Randnucleolen, die über den Kern hervorzuragen scheinen. Die Chromosome (da kurz nach dem Bukett) noch basichromatisch.

Fig. 35. Zahlreiche Randnucleolen ausgebildet.

Fig. 36 u. 37. Die Randnucleolen flächenhaft der Kernmembran angelagert. Die Chromosome rein oxychromatisch.

Fig. 38 u. 39. Bei weiterem Kernwachstum Schwund der basophilen Nucleolarsubstanz. Die oxychromatischen Chromosome konzentrieren sich. Dabei schmelzen basische Chromatinkugeln ab.

Tafel V.

C. Arthropoden.

Chilopoden.

Himentaria (Rovigno, Nov.—Dez.).

Fixierung: Carnoy. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 1080×.

Fig. 40—43. Wachstum des Eikernes mit seinem basichromatischen Nucleolus und seinen oxychromatischen Chromosomen.

Scolopendra (Opcina bei Triest, Sept.).

Fixierung: Carnoy. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 1080×.

Im Eikern entwickeln sich ganz extreme Massen basophiler Nucleolarsubstanzen.

Fig. 44 u. 45. Junge Oocytenkerne mit ein oder zwei Nucleolen.

Fig. 46 u. 47. Diese vacuolisieren sich und bilden eine globulitische Masse. Die oxychromatischen Chromosome sind im Kernreticulum suspendiert.

Fig. 48 u. 49. Diese Nucleolarmasse wächst riesig heran und beginnt sich im Kern zu zerstreuen.

Fig. 50 u. 51. Es bilden sich mehrere Nester, von denen aus die Vermehrung der basophilen, globulistischen Nucleolarsubstanz erfolgt.

Fig. 52. Der Kern ist vollgestopft von Nucleolarmassen, die jetzt aber etwas an Basichromatizität eingebüßt haben.

Orthopteren.

Blatta.

Fixierung: Sublimat-Eisessig. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 820×.

Fig. 53—56. Wachstum des normalen Eikernes mit seinem basichromatischen Nucleolus und seinen oxychromatischen Chromosomen.

Decticus.

Fixierung: 50° Zenker. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 820×.

Der ursprünglich einheitliche Nucleolus schnürt zahlreiche Tochternucleolen ab, die sich enorm vermehren und zahlreiche »Randnucleolen« bilden. Die dauernd vorhandenen Chromosome sind rein oxychromatisch.

Fig. 57. Junger Oocytenkern mit basophilem Nucleolus, der sich anschickt, mehrere Knospen oder Neuanlagen abzustoßen.

Fig. 58. Weitere Ausbildung und Vermehrung dieser Nucleolen.

Fig. 59 u. 60. Randnucleolen bei Oberflächenansicht.

Fig. 61. Die zahlreichen Randnucleolen im Querschnitt.

Gryllotalpa.

Fixierung: Carnoy. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 820×.

Der in Einzahl vorhandene, basichromatische Nucleolus zerfällt in zahlreiche Nucleolen dieser Reaktion, die immer in einem Kernsegment gelegen sind. Daneben bildet sich noch ein großer, oxychromatischer Nucleolus aus. Die oxychromatischen Chromosome sind dauernd vorhanden.

Fig. 62 u. 63. Der Nucleolus des jungen Oocytenkernes schickt sich an zu zerfallen.

Fig. 64—66. Allmähliche Vermehrung der basophilen, globulären Nucleolarsubstanz.

Fig. 67. Erstes Auftreten des oxychromatischen Nucleolus.

Fig. 68—70. Weiteres Wachstum der beiden Nucleolarsubstanzen.

Tafel VI.

Gryllus.

Auch die sich (angeblich) aus einem accessorischen Chromosom herschreibende Ersatz-Nucleolarsubstanz des *Gryllus*-Eies zeigt die basichromatische Reaktion. Der anfangs in Einzahl vorhandene Nucleolus löst sich in zahlreiche, schließlich staubförmige Körnchen auf. Die dauernd vorhandenen Chromosome sind rein oxychromatisch.

Fig. 71. Bukettstadium mit basichromatischem Nucleolus und Chromosomen.

Fig. 72 u. 73. Letztere büßen nach dem Bukett ihre Basophilie ein und werden oxychromatisch. Der Nucleolus sondert sich in einen kompakten und einen stark vacuolisierten Teil.

Fig. 74. Der vacuolisierte Teil löst sich in viele basichromatische Granula auf.

Fig. 75—77. Diese vermehren sich bedeutend und sammeln sich um mehrere nucleolenartige Centren.

Fig. 78. Auch diese centralen Verdichtungen zerfallen granulär. Die in Fig. 78 nur in einem Kernsegment suspendierten Granula zerstreuen sich bald im ganzen Kern. Hierbei büßen sie ihre Basophilie ein.

Coleopteren.

Dytiscus.

Auch der rätselhafte »GIARDINAsche Körper« zeigt die typische Basophilie der Nucleolarsubstanz des wachsenden Eies. Ein Grund mehr, ihn für eine specifische Substanz mit Nucleolarfunktion anzusprechen.

Fig. 81—91 Kopien nach GIARDINA (01).

Fig. 81. Ruhende Oogonie mit gleichmäßigem Kernreticulum.

Fig. 82. Differenzierung der fraglichen Chromatinmasse innerhalb des Kernes.

Fig. 83. Prophase der ersten Differenzierungsmitose.

Fig. 84. Der jetzt ringförmige, chromatische Körper liegt an dem einen Pol und wird bei der ersten Differenzierungsmitose nur in die eine Tochteroogonie aufgenommen.

Fig. 85. Rekonstruktion der Tochterkerne. Nur die eine Oogonie hat den Köper bekommen.

Fig. 86. Durch viermalige Teilung, bei der der fragliche Körper immer nur in die eine Oogonie wandert, entstehen 1 Oocyte (mit Körper) und 15 Nährzellen (ohne Körper).

Fig. 87—89. Allmähliche Auflösung dieses Körpers.

Fig. 90 u. 91. Weitere Kernentwicklungsstadien mit oxychromatischen Chromosomen und basichromatischen Nucleolarmassen, die sich nach DEBAISIEUX von dem fraglichen Körper ableiten.

Crustaceen.

Astacus.

Fixierung: Sublimat-5%iger Eisessig. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 335×.

Fig. 79 u. 80. Die wenigen Randnucleolen zeigen die typische basophile, die Chromosome die oxychromatische Reaktion.

D. Echinodermen.

Echinaster sepositus.

Fixierung: Sublimat-5%iger Eisessig. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 575×.

Der anfangs in Einzahl vorhandene Nucleolus zerfällt in eine große Anzahl von Nucleolen, die durch nesterweise Vermehrung den ganzen Kern dicht anfüllen. Diese Nucleolarsubstanz weist die typische Basichromasie auf.

Fig. 92. Junge Oocyte. Der in Einzahl vorhandene Nucleolus ist globulitisch geworden und hat bereits einige kleine Nucleolen abgegeben.

Fig. 93. Kern eines mittelgroßen Eies mit den zahlreichen, granulären Nucleolen. Verstreut im Kern Nucleolennester. Die oxychromatischen Chromosome wurden bei unsrer kleinen Übersichtsskizze (Fig. 93) vernachlässigt.

Cephalopoden.

Oktopus.

Fixierung: 50° Zenker. (Roskoff, Sept.) Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 820×.

In jungen Oocytenkernen treten mehrere Nucleolen auf, die aber bald »verbraucht« werden.

Fig. 94. Jüngster Oocytenkern mit zwei Nucleolen.

Fig. 95 u. 96. Auftreten weiterer Nucleolen.

Fig. 97 u. 98. Deren Wachstum, Vacuolisation und Auflösung.

Fig. 99. In den älteren Eikernen ist nur ein Nucleolus noch vorhanden. Die oxychromatischen Chromosome sind dauernd nachweisbar.

E. Wirbeltiere.

Fische.

Melamphaës nigrescens.

Fixierung: Alkohol. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 820×.

Querschnittsbilder.

Neben dem in Einzahl vorhandenen Nucleolus entstehen in jungen Oocyten zahlreiche, basichromatische Randnucleolen, die sich abflachen, vacuolisieren und zu eigenartigen, chromosomalen Tetraden, Achterfiguren usw. auswachsen. Diese werden bis zu ihrem völligen Schwund verbraucht. Die oxychromatischen Chromosome sind dauernd vorhanden.

Fig. 100. Junger Oocytenkern mit zahlreichen, kugeligen Randnucleolen.

Fig. 101. Diese flachen sich ab und

Fig. 102. wachsen unter Vacuolenbildung in das Keiminnere hinein,

Fig. 103. wo sie chromosomale Figuren bilden.

Fig. 104. Verbrauch der Nucleolarsubstanz, die jetzt zu kleinen, chromosomalen Knäueln reduziert ist. (Vergrößerung: 575×.)

Tafel VII.

Melamphaës nigrescens.

Oberflächenbilder des Kernes.

Fig. 105. Oogonienkern mit einem Nucleolus.

Fig. 106. Oocytenkern mit einem Nucleolus.

Fig. 107. Erstes spontanes Auftreten zahlreicher, staubförmiger Randnucleolen.

Fig. 108 u. 109. Heranwachsen dieser Randnucleolen.

Fig. 110. Ihre Pseudopodienbildung und Vacuolisierung.

Fig. 111. Schließlich wachsen sie zu bizarren, unregelmäßig fädigen Gebilden heran, die

Fig. 112. immer länger werden und

Fig. 113. sich schließlich zu chromosomenartigen, dicht der Kernmembran angelagerten Fäden auswachsen.

Fig. 114. Höhepunkt der Nucleolenausbildung. Diese täuschen Achterfiguren, Kreuze usw. vor.

Fig. 115. Dann findet ein »Verbrauch« der Nucleolarsubstanz, die zu kleinen »Chromosomen« abschmilzt, statt. (Vergrößerung: 575×.)

Melamphaës spec. ?

Fixierung: Alkohol. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 820×.

Die Querschnittserie

zeigt die bei *M. nigrescens* gefundenen Strukturen noch stärker betont. In älteren Eikernen schwindet die Nucleolarsubstanz völlig.

Fig. 116. Junge Oocyte mit einem Nucleolus.

Fig. 117. Auftreten zahlreicher Randnucleolen.

Fig. 118. Abflachung der Randnucleolen.

Fig. 119. Deren Vacuolisation und

Fig. 120. Wachstum in das Kerninnere.

Fig. 121. Ihre Auflösung dort zu fädig-körnigen Gebilden, die

Fig. 122. miteinander vorübergehend verschmelzen, und

Fig. 123. tiefer in das Kerninnere hineinwandern.

Fig. 124. Höhepunkt der fädigen Ausbildung der Nucleolarsubstanz, die zwei Drittel des ganzen Kernes einnimmt.

Fig. 125. Nach Verbrauch dieser Nucleolarsubstanz finden sich nur noch spärliche Reste davon im Kern, die schließlich auch verschwinden. Die oxychromatischen Chromosome als zarte Lampenbürsten vorhanden. (Vergrößerung: 575×.)

Cyklostomen.

Bdellostoma.

Fixierung: ? Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 500×.

Im Eikern findet sich dauernd ein basophiler Nucleolus.

Fig. 126 u. 127. Junge Oocytenkerne mit dem Nucleolus und oxychromatischen Chromosomen.

Fig. 128. Kern eines mittelgroßen Eies mit dem vacuoligen Nucleolus.

Dipneusten.

Lepidosiren.

Fixierung: Alkohol. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergrößerung: 510×.

Die an Knochenfisch- und Amphibieneier erinnernden Keimbläschen bilden zahlreiche kleine, basichromatische Randnucleolen aus.

Fig. 129. Junger Oocytenkern kurz nach dem Bukettstadium, mit basichromatischen Chromosomen, an denen scheinbar Nucleolen entstehen.

Fig. 130 u. 131. Typische Kerne mit zahlreichen, basophilen Nucleolen und oxychromatischen, netzförmig angeordneten Chromosomen.

Tafel VIII.

F. Mollusken.

Patella rota (aus dem roten Meer).

Fixierung: Alkohol. Färbung: Jodgrün-Fuchsin. Vergrößerung: 1080×.

Fig. 132. Jüngste Oocyten mit einem roten (Chromatin-) Nucleolus.

Fig. 132 *a*, *b*, *c*. Junge Oocyten mit einem roten und mehreren blauen (Plastin-) Nucleolen.

Fig. 132 *d*. Zelle mit degeneriertem Kern, dessen (Plastin-) Nucleolarsubstanz enorm gewachsen ist.

Fig. 132 *e*. Größerer Oocytenkern mit (ausnahmsweise) zwei (Plastin-) Nucleolen.

Fig. 133 u. 134. Auftreten eines zweiten blauen (Plastin-) Nucleolus.

Fig. 135—138. Weiteres Wachstum beider Nucleolen.

Fig. 139. Der rote (Chromatin-) Nucleolus hat seine Basizität eingebüßt. Erstes Auftreten weiterer staubförmiger Nucleolen.

Fig. 140 u. 141. Diese wachsen beträchtlich heran.

Fig. 141 *a*. Vacuolisation des blauen (Plastin-) Nucleolus.

Patella tramoserica (aus Australien).

Fixierung: Alkohol. Färbung: Jodgrün-Fuchsin. Vergrößerung: 1080×.

Fig. 142. Junge Oocyten mit beiderlei Nucleolen.

Fig. 143—146. Deren Verschmelzung zu einem Amphinucleolus und weiteres Wachstum.

Fig. 147 u. 148. Der blaue (Plastin-) Nucleolus wächst beträchtlich heran.

Fig. 149 u. 150. Auftreten zahlreicher neuer roter (Chromatin-) und blauer (Plastin-) Nucleolen.

Fig. 151 u. 152. Vacuolisierte Amphinucleolen mit enorm entwickelten blauen (Plastin-) Substanzen.

Tafel IX.

Patella spec ? (aus Roskoff).

Fixierung: Sublimat. Färbung: Jodgrün-Fuchsin. Vergrößerung: 1080×.

Fig. 153. Junge Oocyte. Nucleolus mit rotem (Chromatin-) Ring,

Fig. 154—156. dessen Substanz heranwächst und sich zu zahlreichen Kügelchen sammelt.

Fig. 157 u. 158. Erstes Auftreten der blauen (Plastin-) Nucleolarsubstanz.

Fig. 159—164. Weiteres Wachstum der Nucleolarsubstanzen und deren Vereinigung zu einem blau-roten Amphinucleolus. Der blaßrote »Primärnucleolus« ist während der weiteren Stadien dauernd vorhanden und steht immer isoliert.

Fig. 165—171. Neue Nucleolarsubstanzen legen sich an. Die blaue (Plastin-) Substanz in Gestalt großer, fingerförmiger Lappen, auf denen sich die rote (Chromatin-) Substanz in Kugelform niederschlägt.

Fig. 172—176. Beide Substanzen können zu weiteren Amphinucleolen verschmelzen (Fig. 176).

Fig. 177. Riesiger Amphinucleolus mit ausgedehnter Vacuolisation.

Tafel X.

Patella coffea (aus Upolu).

Fig. 178. Junge Oocyte mit Amphinucleolus.

Fig. 179—181. Auftreten zahlreicher blauer (Plastin-) Nucleolen.

Fig. 182 u. 183. Deren weiteres Wachstum. Der rote »Primärnucleolus« ist in drei zerfallen.

Fig. 184—186. Vacuolisation der blauen (Plastin-) Nucleolen. Auftreten der roten (Chromatin-) Nucleolarmassen in Gestalt feinster Granula.

Fig. 187—189. Vereinigung beider Nucleolarsubstanzen zu zahlreichen, randständigen Amphinucleolen.

Patella coerulea (aus Neapel).

Fixierung: Sublimat. Färbung: Jodgrün-Fuchsin. Vergrößerung: 1080×.

Fig. 190. Junge Oocyte mit rotem Nucleolus.

Fig. 191—193. Auftreten weiterer roter (Chromatin-) Nucleolen.

Fig. 194 u. 195. Die zahlreichen Chromatinnucleolen wachsen heran. Der »Primärnucleolus« durch seine hellrote Farbe gekennzeichnet.

Fig. 196 u. 197. Differenzierung der roten (Chromatin-) in Amphinucleolen.

Fig. 198—200. Weiteres Wachstum des Kernes und seiner zahlreichen Amphinucleolen. Der hellrote Primärnucleolus ist dauernd vorhanden.

Fig. 201. Querschnitt mit den amphinucleolären »Randnucleolen«.

Fig. 202. Diese an einem Kernpol verlagert (Fixierungsartefakt).

Fig. 203. *Proteus*-Keimbläschenausschnitt. Reaktion der basichromatischen Amphibienrandnucleolen bei Jodgrün-Fuchsinfärbung.

Fig. 204. *Piscicola*-Ei bei dieser Farbenreaktion. Der basichromatische Nucleolus intensiv rot gefärbt. Die Reste der plasmatischen Niederschlagsmembranen gleichfalls intensiv »chromatisch« tingiert.

Tafel XI.

Umrißskizzen der auf gleichen Stadien gleichgroßen Eikerne und Zellen der fünf untersuchten *Patella*-Species zur Demonstration der Unabhängigkeit der Kern- und Zellgröße, sowie des Dotterreichtums von der Masse der in den einzelnen Species jeweils vorhandenen Nucleolarsubstanz. (Vergrößerung: 500×.)

Tafel XII.

Verdauungsexperimente mit Pepsinsalzsäure.

Fixierung: Alkohol bei allen Objekten.

1. *Patella coerulea* (aus Neapel). (Fig. 1—6, *a—d*, linker Teil der Tafel.)

a) Die oxychromatischen Chromosome werden nach 15—20′ verdaut.

b) Die basichromatischen Nucleolen sind in jungen Stadien unverdaulich, in älteren nach immer kürzerer Zeit auflösbar.

c) Die blauen (Plastin-) Nucleolen sind schneller löslich als die roten (Chromatin-) Nucleolen.

2. *Piscicola*. (Fig. 1. Vergrößerung: 700×.)

a) Die oxychromatischen Chromosome sind wie das Kernreticulum nach 10′ verdaut.

b) Der basichromatische Nucleolus ist auch nach 48^h Pepsineinwirkung unverdaulich.

c) Das Eiplasma und die Niederschlagsmembranen werden gleichfalls nicht gelöst.

3. *Tinca.* (Fig. 2 u. 3. Vergrößerung: 510×.)

a) Die oxychromatischen Chromosome werden in 6—10′ gelöst.

b) Die Nucleolarsubstanz wird durch 24^h Pepsineinwirkung zwar an Masse reduziert, bleibt aber zum größten Teil erhalten und ist nach der Verdauung stark färbbar.

c) Das Eiplasma ist völlig unverdaulich.

4. *Leuciscus.* (Fig. 4 u. 5. Vergrößerung: 510×.)

a) Die Chromosome sind, wie immer, nach 10′ völlig aufgelöst.

b) Die Nucleolarsubstanz ist nach 3^h Pepsineinwirkung zum größten Teil geschwunden, oder so weit verdaut, daß bei nachträglicher Chromatinfärbung nur noch farblose Nucleolenschatten (= Fig. 6. Vergrößerung: 1080×) vorhanden sind.

c) Das chromatophile Protoplasma ist auch hier völlig unverdaulich.

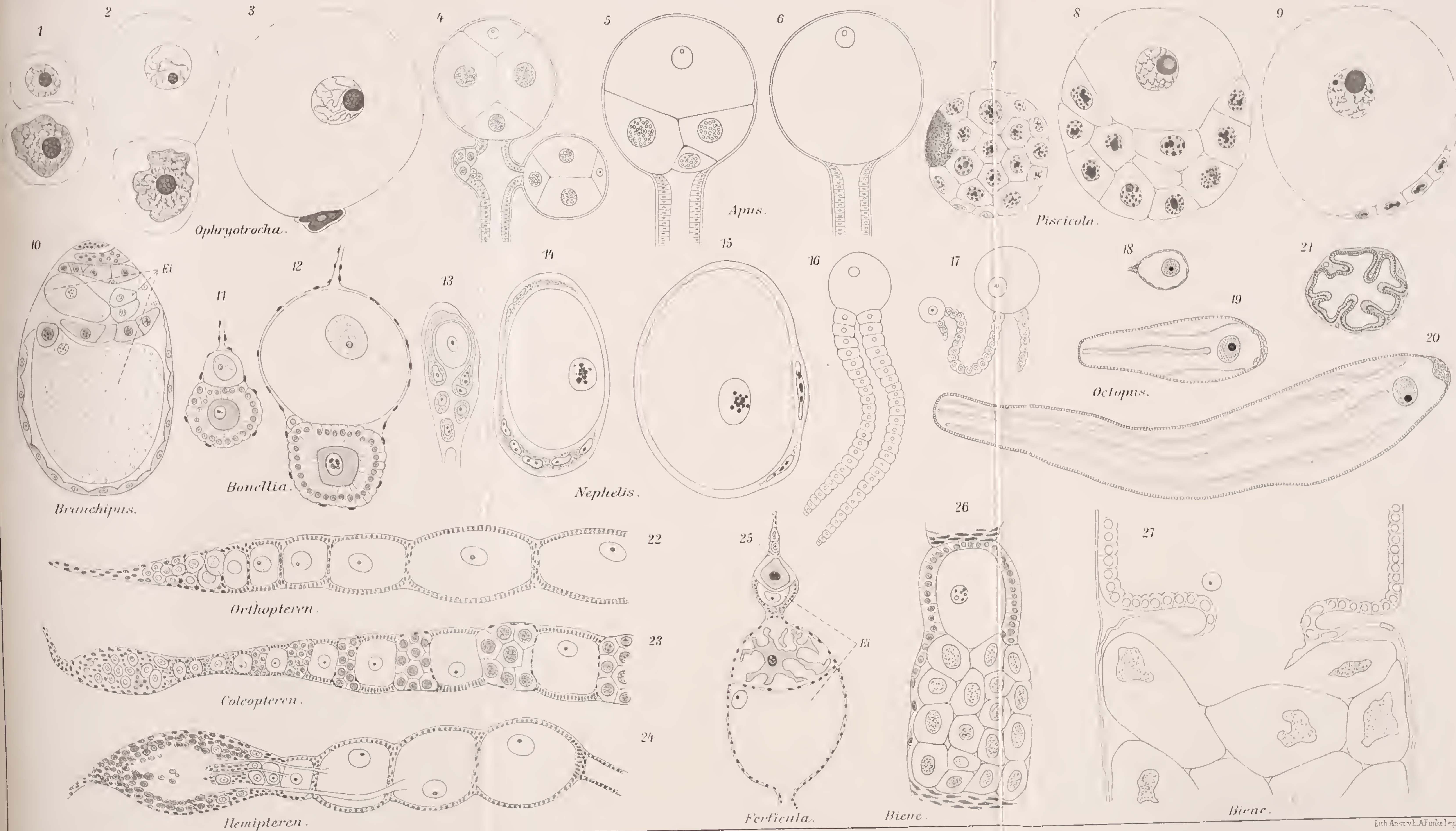
5. *Salamandra maculosa.* (Fig. 7—10. Vergrößerung: 500×.)

Fig. 7. Normalkern mit Chromatinreticulum und Randnucleolen.

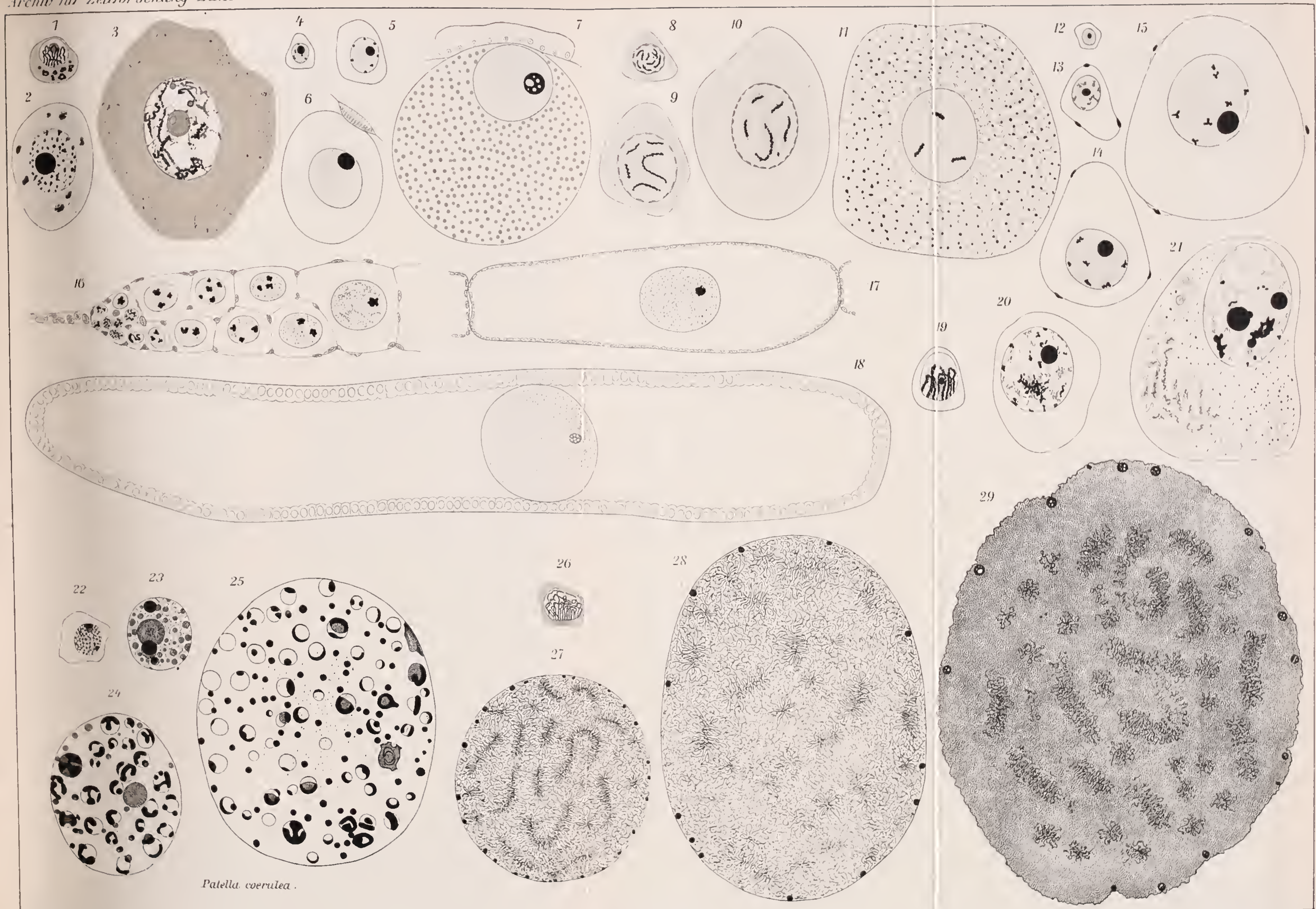
Fig. 8. Nach 6′ Pepsineinwirkung sind die oxychromatischen Lampenbürsten fast völlig aufgelöst.

Fig. 9. Nach 9′ Einwirkung sind auch die basichromatischen »Chromatin«-Nucleolen verschwunden.

Fig. 10. Letzte farblose Nucleolenreste nach 9′ Pepsineinwirkung. Das chromatophile Plasma jugendlicher Eier ist völlig unverdaulich.



Jorgensen gez. Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
Patella coerulea.



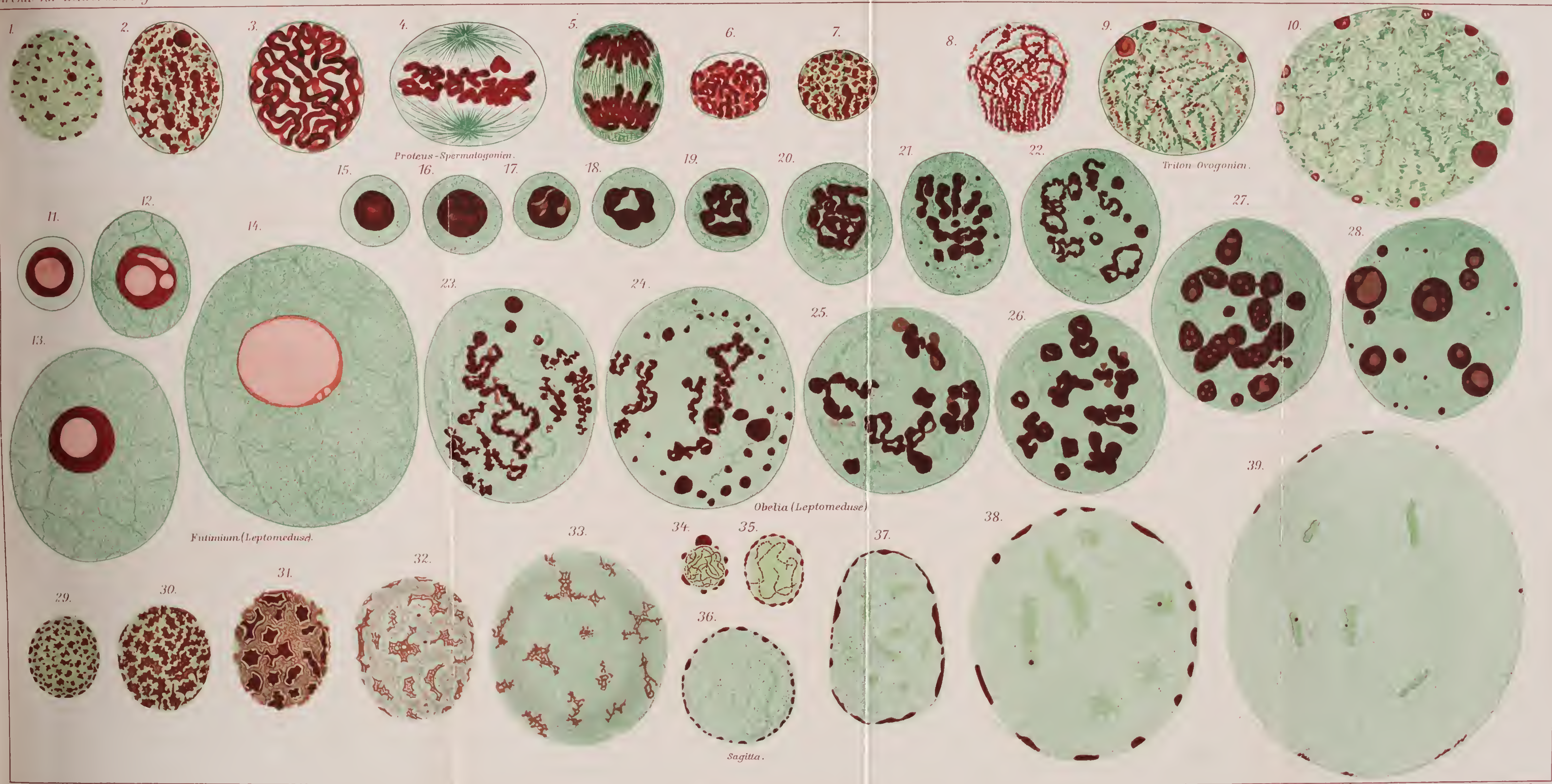
Jorgensen gez.

Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig

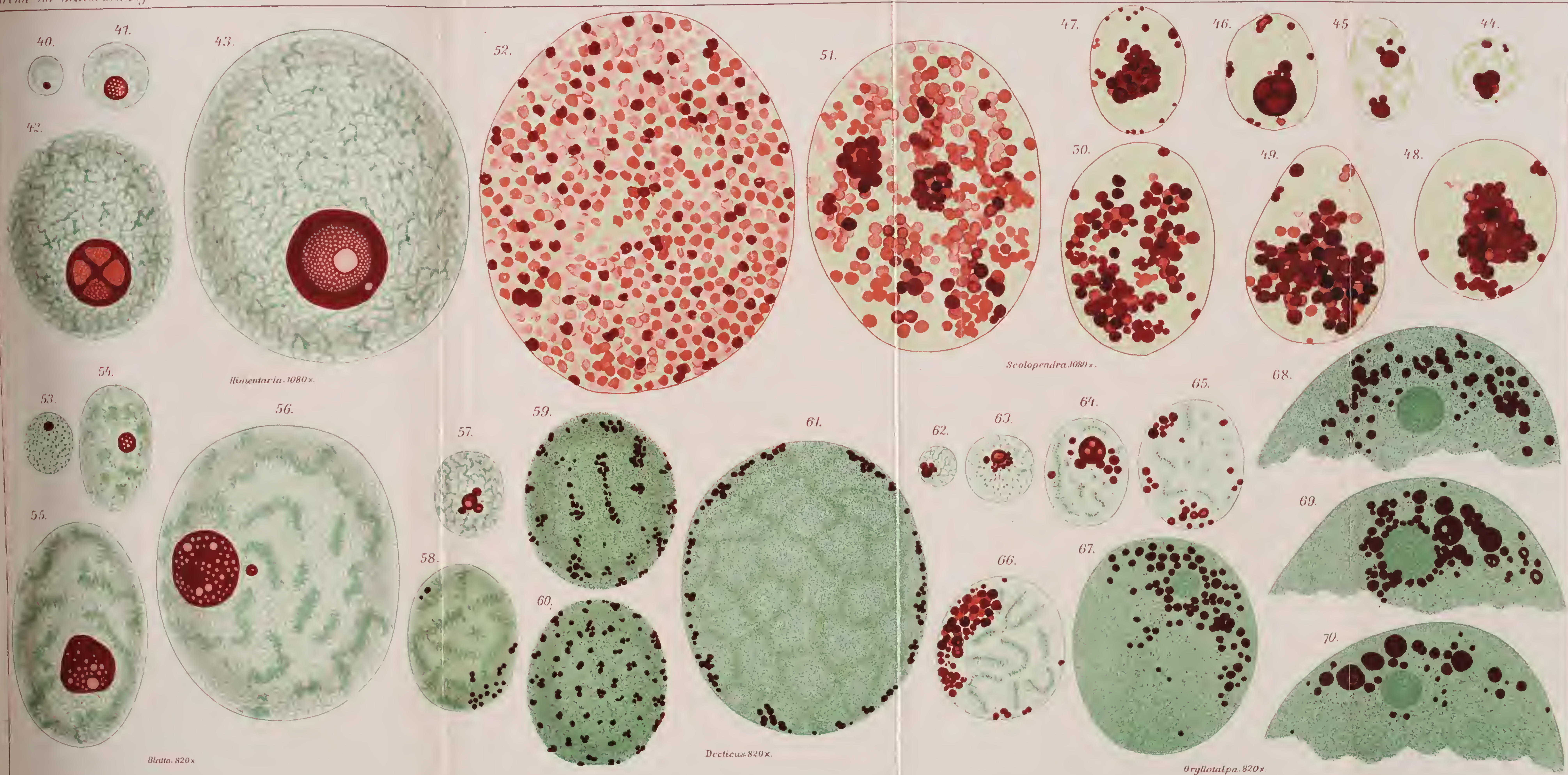
Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

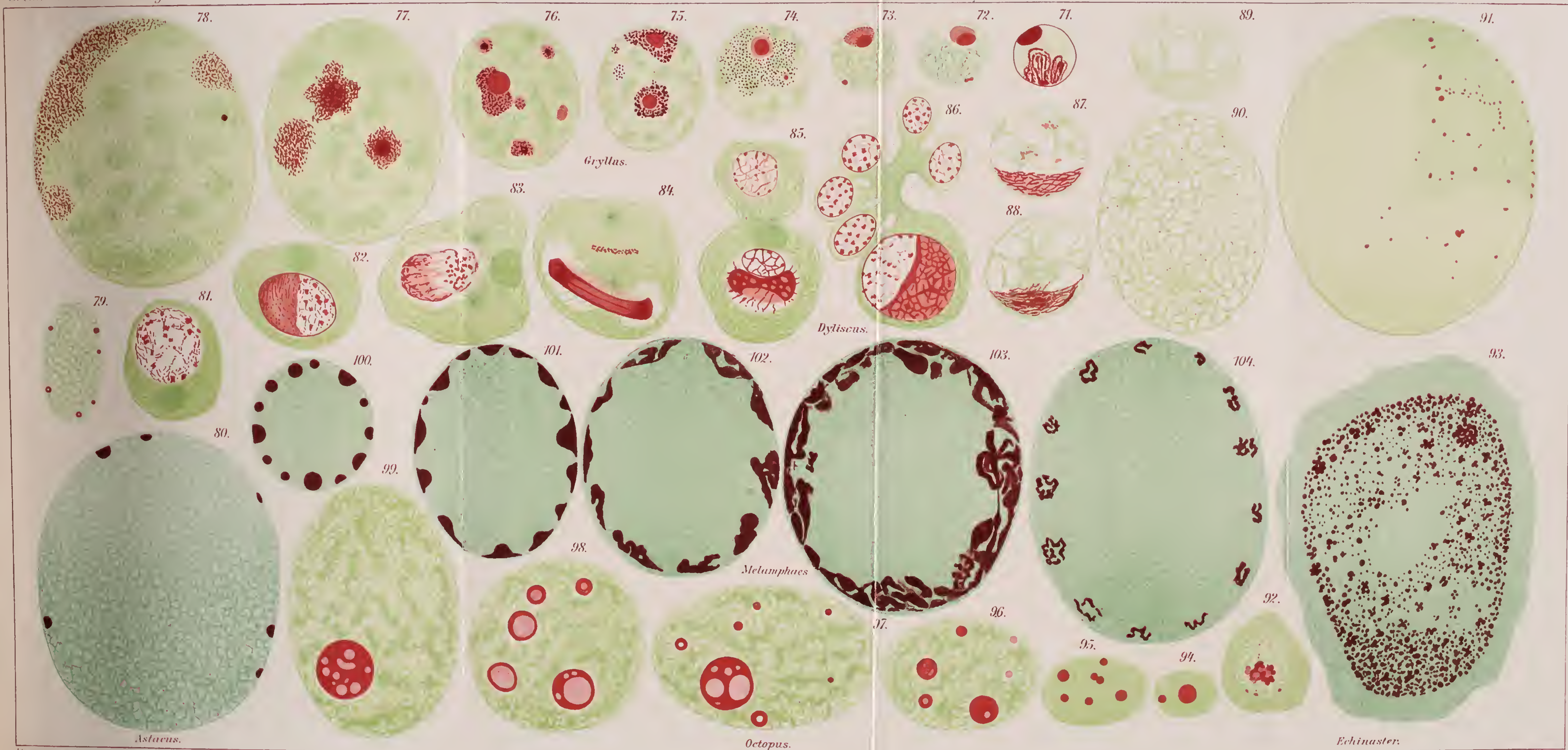


Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig
Lith. Anst. v. A. Funke, Leipzig

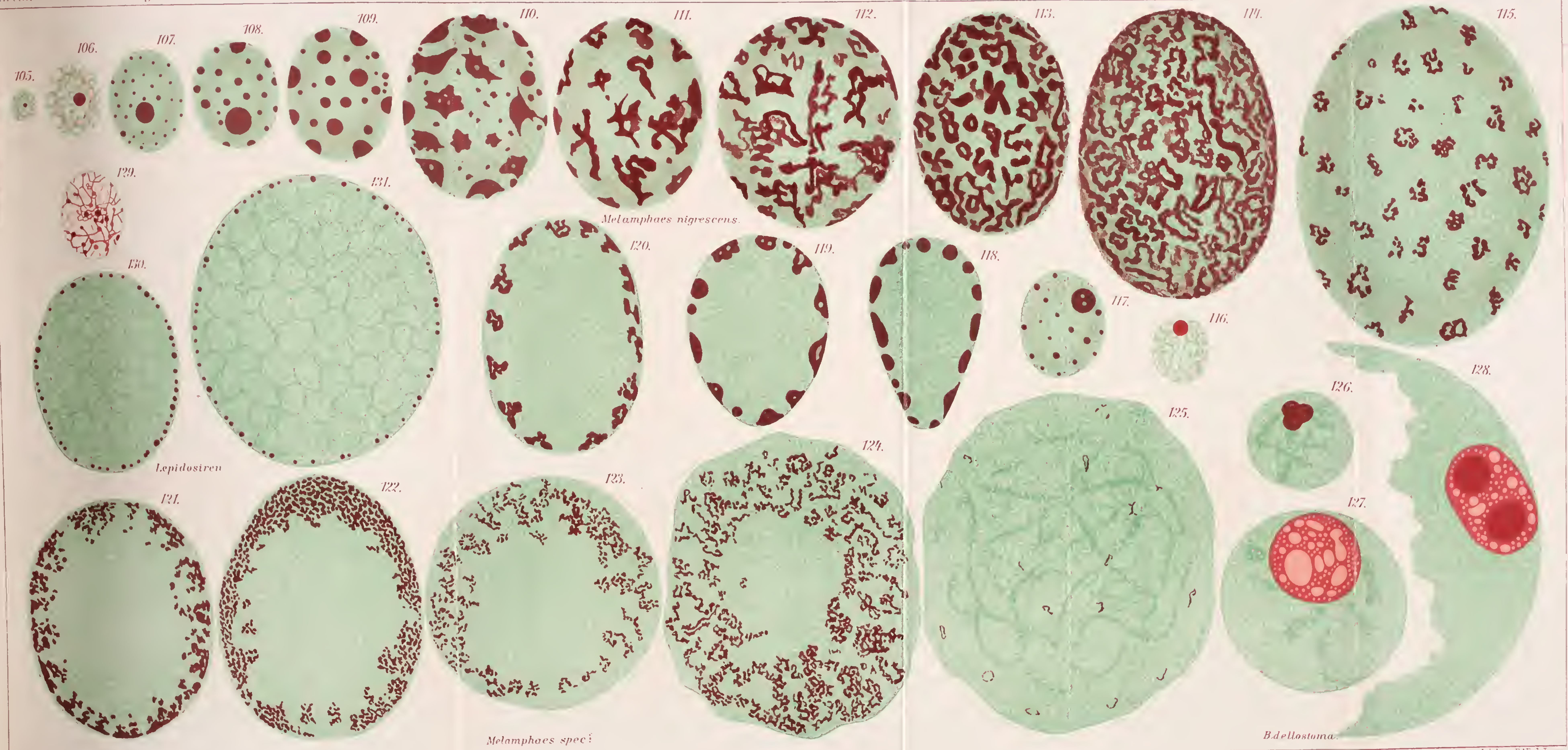


1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10.
Proteus - Spermatogonien.
Triton Ovogonien.
11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24. 25. 26. 27. 28.
Futimium (Leptomeduse).
Obelia (Leptomeduse)
29. 30. 31. 32. 33. 34. 35. 36. 37. 38. 39.
Sagitta.

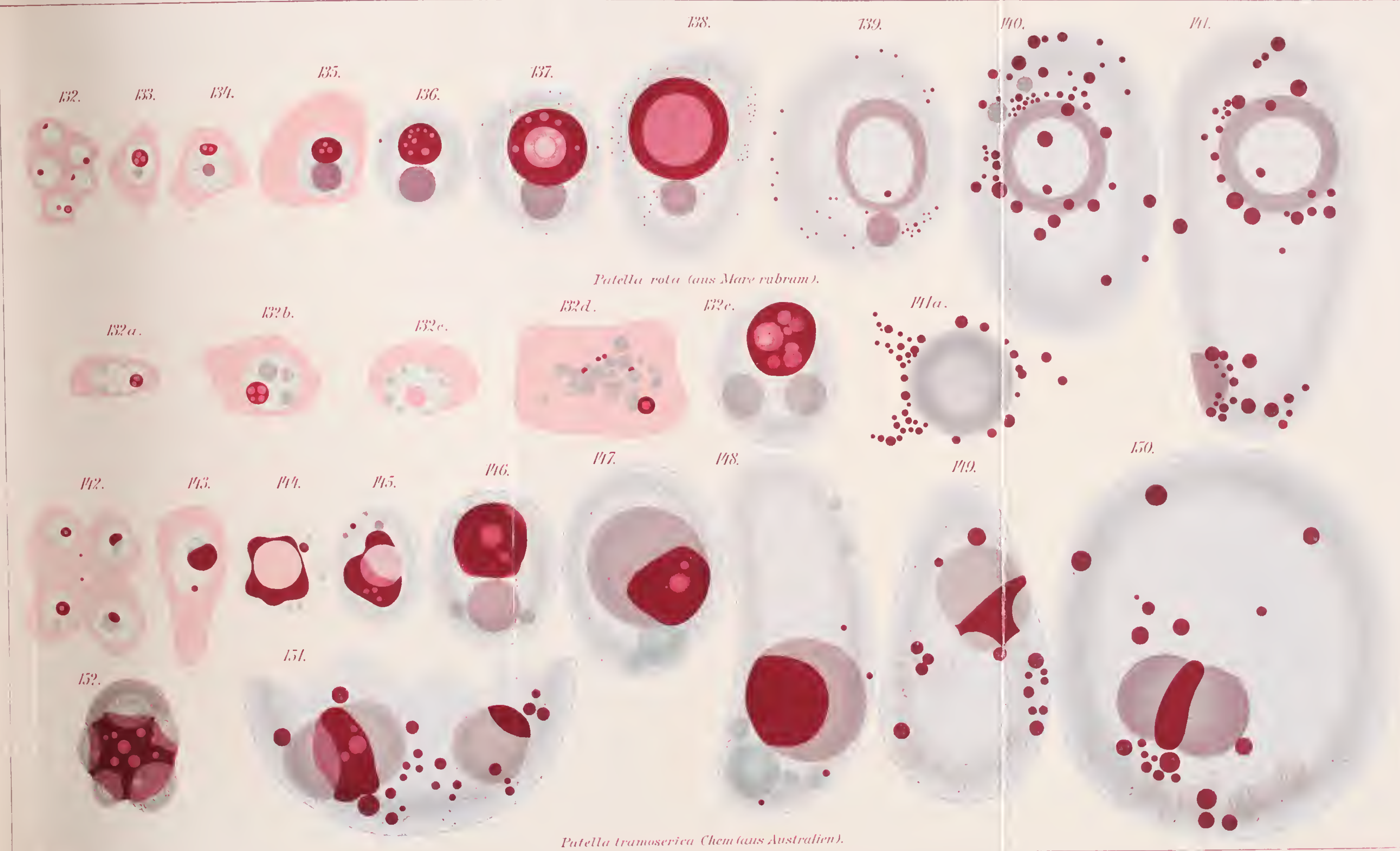

40.
41.
42.
43.
44.
45
46.
47.
48.
49.
50.
51.
52.
53.
54.
55.
56.
57.
58.
59.
60.
61.
62.
63.
64.
65.
66.
67.
68.
69.
70.
Himentaria. 1080×.
Scolopendra. 1080×.
Blatta. 820×
Decticus. 820×.
Gryllotalpa. 820×.



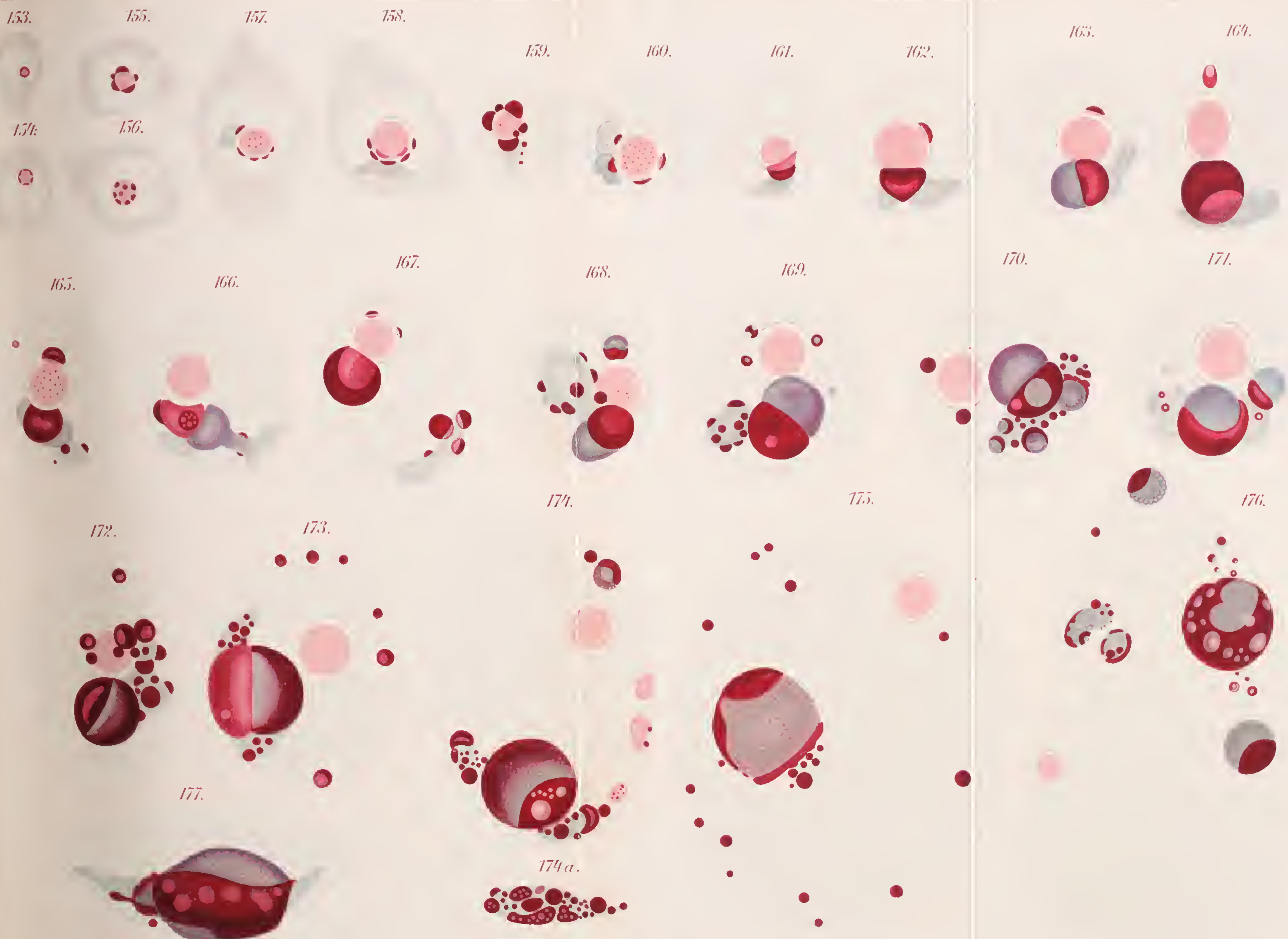
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig



Jorgensen gez. Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

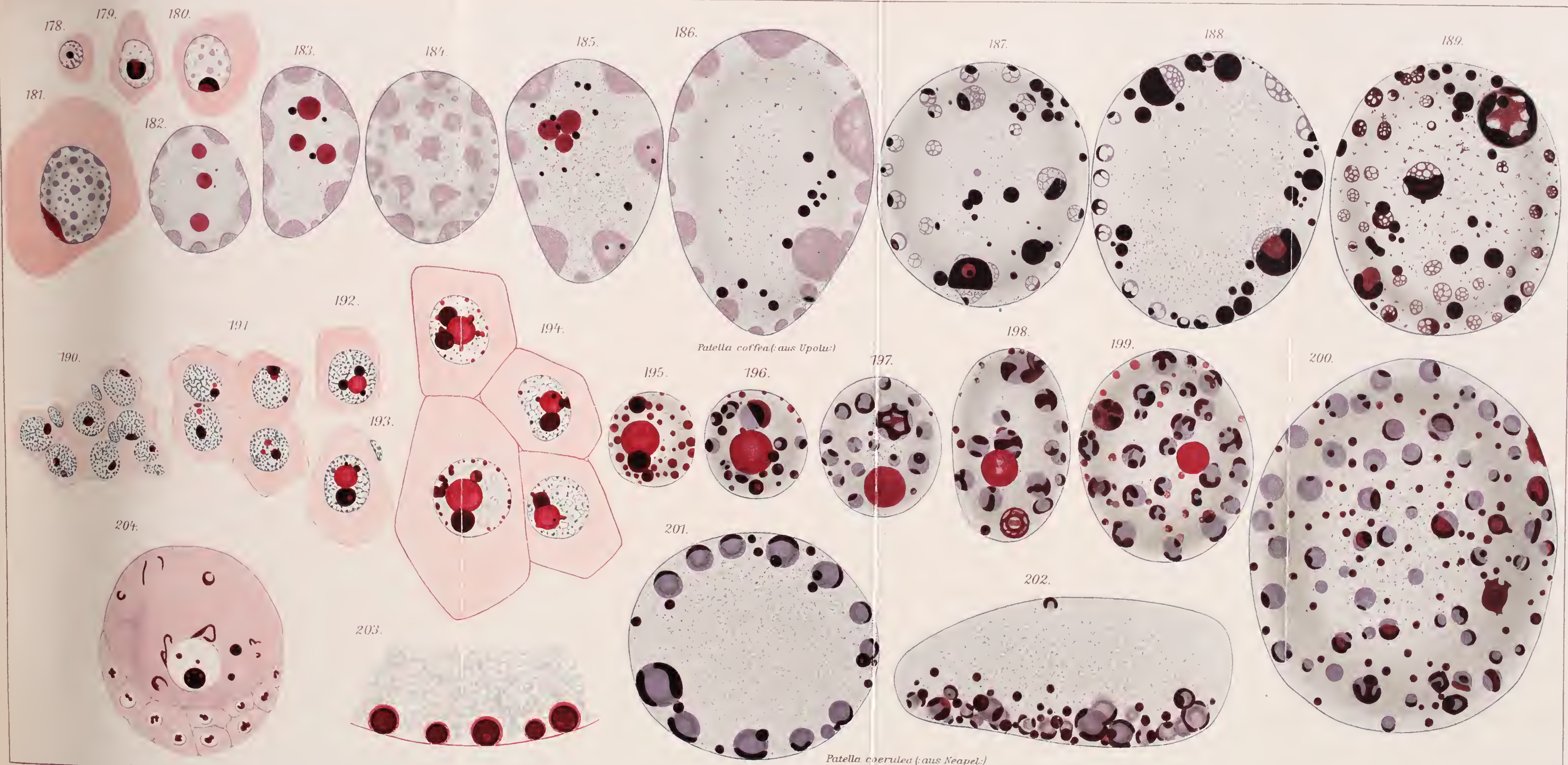


Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig.

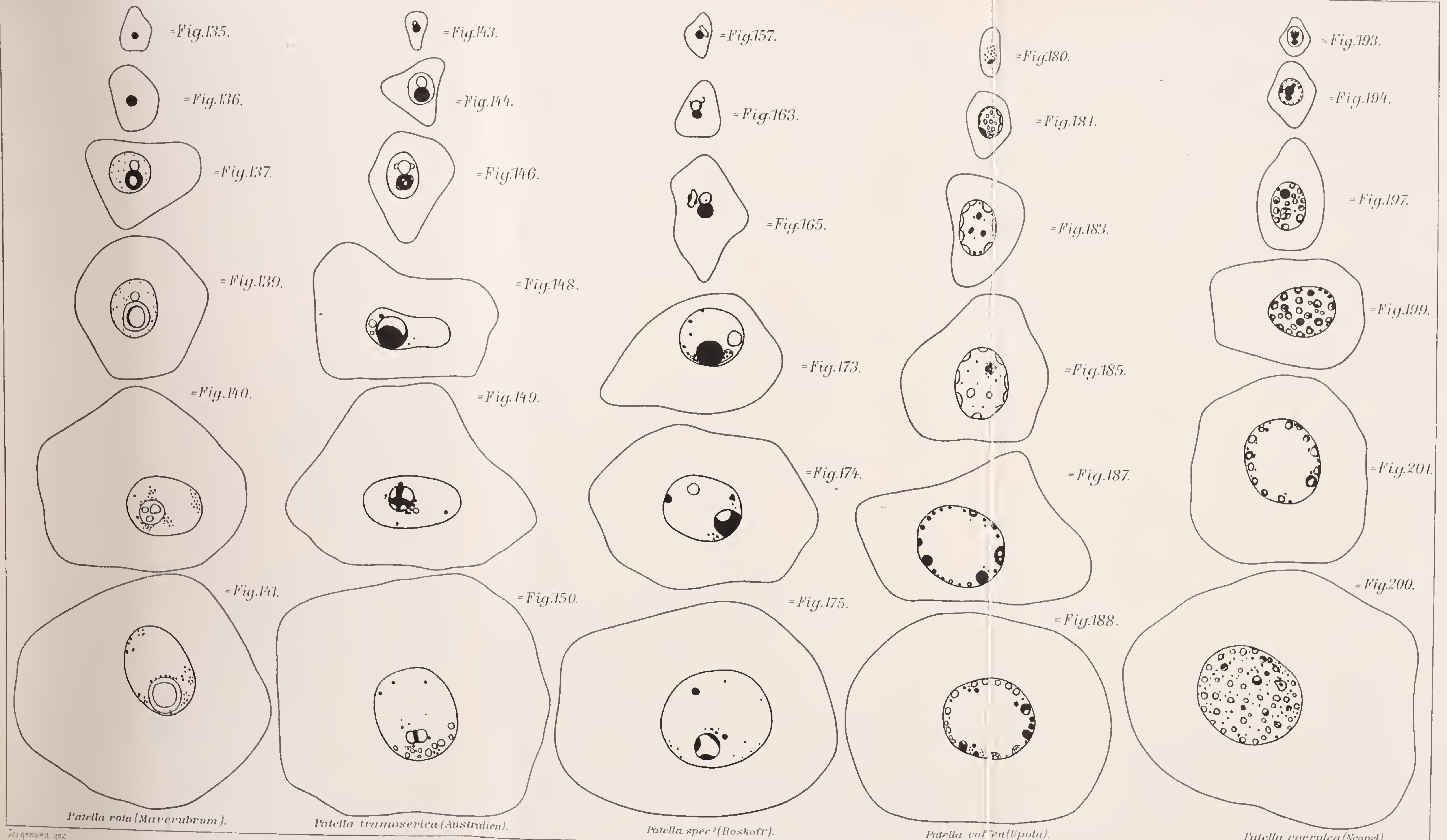


Patella spec. (aus Roskoff).

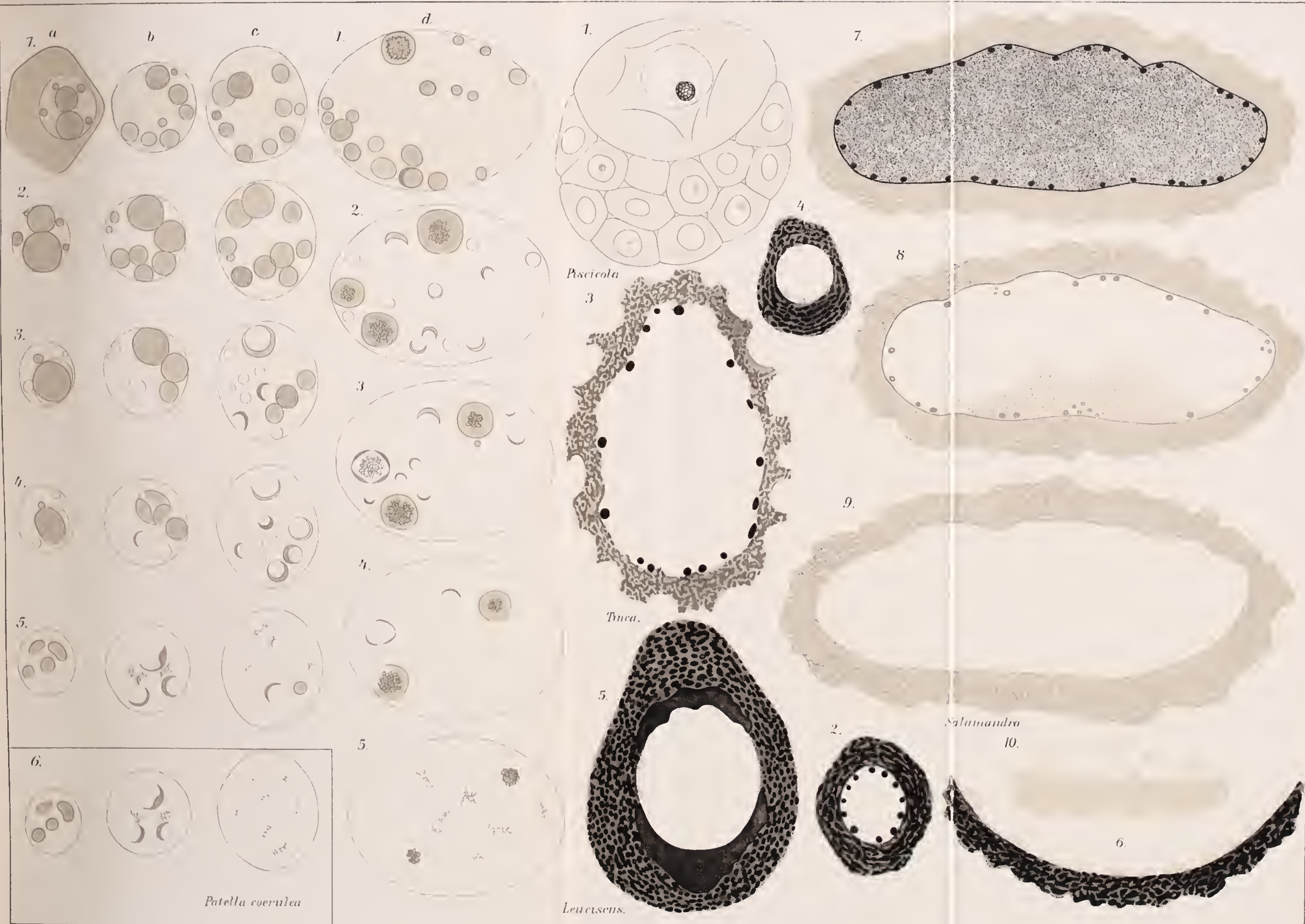
Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig



Jörgensen gez.
Verlag v Wilhelm Engelmann in Leipzig



Jørgensen gez. Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig



1. a
b
c
d
1.
2.
3.
4.
5.
6.
Patella coerulea
1.
Piscicola
3
Tinca.
4.
5.
2.
Leuciscus.
7.
8
9.
Salamandra
10.
6.

Zellenstudien. II.

Die Ei- und Nährzellen von Piscicola.

Von

Max Jörgensen †.

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Mit 5 Textfiguren und Tafel XIII—XVIII.

Einleitung.

Das *Piscicola*-Ei gehört, wie bereits in unsrer vorstehenden Arbeit angedeutet wurde, zu den nutrimentär wachsenden Eiern, d. h. es besitzt eine größere Anzahl (bis 50) Nährzellen, die in der Hauptsache das Eiwachstum durch aktive Secretion von Nährmaterial in die Eizelle übernommen haben.

Dabei bleibt der Kern des Eies selbst klein; seine Chromatinstrukturen sind einförmig und uninteressant. Wenn ich trotzdem diesem Objekt eine besondere Arbeit gewidmet habe, so geschah es

1. wegen interessanter, plasmatischer Strukturen, die ich als Niederschlagsmembranen deute. Diese Strukturen, die bisher den Autoren entgangen waren, besitzen wegen ihrer physikalischen Dichte die Fähigkeit, sich mit Chromatinfarben zu färben, und täuschen besonders wegen ihrer häufigen Lage unmittelbar am Kern, sehr leicht »Chromidien« vor.

2. Weiterhin aber zeigt das *Piscicola*-Ei sehr schöne, große und klare Bilder der ersten Richtungsspindel, die das Ei in seiner ganzen Ausdehnung durchsetzt. Wir erhalten hierbei Einblick in gesetzmäßige Volumschwankungen der Centriole und in die allmähliche Entstehung mehrfacher, komplizierter Centroplasmen.

3. Das *Piscicola*-Ei eignet sich ferner noch sehr gut zur Demonstration des nutrimentären Eiwachstums; und da seit den Arbeiten von Ludwig (74), Leydig (88) und Montgomery (99) spezielle Mitteilungen

nicht mehr vorliegen, habe ich auch diesem Punkt, mit dem ich jetzt beginne, meine Aufmerksamkeit gewidmet.

Über die Materialbeschaffung ist wenig zu sagen. Im März und April mit Sublimat oder Sublimatgemischen fixierte Tiere ergaben die besten Resultate. Die erwähnten Plasmastrukturen waren bei allen Fixierungen, auch bei Osmiumgemischen sichtbar.

Die Ausbildung der Nährfächer (-Kammern) und ihrer Follikel.

Die Ovarialschläuche von *Piscicola* bieten je nach der Jahreszeit und je nach dem Alter des Tieres ein verschiedenes Aussehen. Zu Beginn der Laichzeit und bei jugendlichen Tieren sind sie dicht angefüllt mit wachsenden oder ausgewachsenen Nährfächern. Gegen Ende der Laichzeit werden diese spärlicher und kommen in ein schwammiges Gewebe zu liegen, über dessen Entstehung keine speziellen Beobachtungen gemacht wurden.

Innerhalb des Eischlauches finden sich an verschiedenen Stellen Keimlager, über deren Anordnung und Entstehung gleichfalls keine Beobachtungen angestellt wurden.

Das Keimlager selbst setzt sich aus zweierlei Elementen zusammen (Fig. 1, Taf. XIII): einmal aus den jungen Eizellen (Oogonien, *Oog.*) mit kleinen, chromatinreichen Kernen und dunkel gefärbtem Plasma und zweitens aus großen Zwischenzellen (*ZZ*) mit großen, hellen, bläschenförmigen Kernen und lichterem Plasma. Beide Zellarten sind eng miteinander verwoben. Die Zellgrenzen sind sehr deutlich; ein Syncytium gelangte niemals zur Beobachtung.

Im Keimlager findet eine rege mitotische Vermehrung der Oogonien statt (Fig. 1*a*, Taf. XIII, Centriole!).

An den nach dem Lumen des Ovarialschlauches zu gelegenen Teilen des Keimlagers grenzen sich Gruppen von Zellen ab. Diese lösen sich schließlich vollständig ab, gelangen ins Lumen des Ovarialschlauches und bilden die Nährfächer, in denen das definitive Ei auf Kosten der andern Zellen heranwächst (Fig. 1, Taf. XIII rechts). Einige (vier bis fünf) junge Oogonien werden hierbei von zwei bis drei Zwischenzellen umschlossen (Fig. 2, Taf. XIII). Letztere bilden einen Follikel um das ganze Nährfach (Fig. 2—7, 9 u. 10 und 14, Taf. XIII).

In den jungen Nährkammern findet nun eine rege mitotische Vermehrung der ursprünglichen vier bis fünf Oogonien statt (Fig. 1—4, Taf. XIII), die schließlich zu einer beträchtlichen Anzahl (bis zu etwa 50) Oogonien führt (Fig. 5 u. 6, Taf. XIII). Nach vollendeter Oogonien-

vermehrung, die entsprechend der mehrzelligen Herkunft der Oogonien (Fig. 1 u. 2, Taf. XIII) sich nicht gleichzeitig auf alle Oogonien erstreckt, — wie man das häufig in Einestern und Hodenfollikeln beobachtet (siehe auch GURWITSCH [11]) — wird in den jungen Oocyten ein Synapsis- und ein Bukettstadium ausgebildet (Fig. 6 *S* und Fig. 9 *B*, Taf. XIII).

Diese Ausbildung der synaptischen Stadien in allen Oocyten, die ja alle — außer einer — zu Nährzellen werden, ist bemerkenswert. Geht doch in den Nährzellen der meisten andern Objekte die Entwicklung der chromatischen Strukturen nicht so weit. Ich erinnere hier nur an die Nährzellen von *Dytiscus* (GIARDINA 01, DEBAISIEUX 09 und GÜNTHERT 10), die nur noch Teilungsversuche machen.

Immerhin gibt es aber auch Fälle, in denen wie bei *Piscicola* auch in Nährzellen ein Bukettstadium ausgebildet wird, ich verweise hier nur auf die Arbeiten von DONS (10) und SENNA (11) bei *Tomopteris* und BUCHNER (12) bei Aphiden. Der Grund für das Auftreten der synaptischen Stadien in diesen abortiven Eizellen liegt sicherlich in der erst später erfolgenden Differenzierung der definitiven Eizelle. In all den Nährzellgruppen, in denen die Eizellen frühzeitig (unmittelbar nach der letzten Vermehrungsteilung) differenziert werden, haben die abortiven Eier nicht mehr die Zeit, ein Bukett auszubilden; sie beginnen schon früher mit ihrer definitiven Funktion.

Das Bukettstadium unsrer Nährzellen löst sich, wie normal, in das diplotene und dictyene Stadium auf. Dann findet sich in den jungen Oocyten ein mehr oder weniger regelmäßiges Chromatinreticulum. Bei FLEMMING-Fixierung konnte ich häufig eine deutliche Tetradenform der einzelnen Chromosome wahrnehmen (*Dytiscus*!). Bei der Kleinheit des Objektes habe ich mich aber nicht bemüht, diese Vorgänge im einzelnen zu verfolgen.

Hat das Oocytenfach eine gewisse Größe erreicht, so beginnt ein Ei stärker zu wachsen (Fig. 8, 10, 14, Taf. XIII). Dieses wird zum Reifei, die übrigen Oocyten bilden als Abortiveier seine Nährzellen. Morphologische Befunde, die dieses specifische Wachstum der einen Eizelle erklären könnten, wurden nicht erhoben.

Bei der weiteren Ausbildung der Nährfächer — wie wir sie jetzt nennen wollen — sind folgende zwei Modifikationen zu unterscheiden.

1. Modifikation.

In jungen Nährkammern liegen die zahlreichen Oogonien bzw. Oocyten dicht gedrängt beieinander. Diese Lagerung kann auch bei weiterem Wachstum beibehalten werden, so daß die Nährkammer auf

dem Schnitt aus dichten Eimassen besteht (Fig. 7 u. 8 und Fig. 14 u. 15, Taf. XIII). Die weitere Entwicklung dieser kompakten Nährfächer zeigt Taf. XIV.

2. Modifikation.

In den jungen Nährkammern bildet sich — ungefähr zu der Zeit, wo die Oocyten sich auf dem Bukettstadium befinden — ein centraler Hohlraum aus, der völlig der Furchungshöhle einer *Blastula* gleicht (Fig. 9). Diese »Furchungshöhle« nimmt bei weiterem Wachstum beträchtliche Dimensionen an (Fig. 10, 12 u. 13, Taf. XIII) und ist meist nur von einem einschichtigen Nährzellepithel begrenzt.

Diese Verhältnisse sind am besten an Querschnitten zu überblicken; Anschnitte wie Fig. 11, Taf. XIII, verdecken natürlich die Höhle.

Der Zweck dieser Furchungshöhle ist unklar. Man kann nur vermuten, daß die in ihr befindliche, gerinnselig ausfallende Flüssigkeit eine ernährende Bedeutung für das Ei hat. Es scheint nämlich, daß die Furchungshöhle nur auftritt in Nährkammern, die verhältnismäßig wenige abortive Eier enthalten. In diesem Falle würde — so könnte man vermuten — die centrale Nährflüssigkeit vikariierend eintreten für die fehlenden Nährzellen.

Über die Bildung der Furchungshöhlenflüssigkeit konnte nur festgestellt werden, daß sie sich nicht von degenerierenden Eizellen herschreibt. Denn in diesem Falle müßten zahlreiche zerfallende Zellen mit ihren pyknotisch degenerierten Kernen gefunden werden. Nur sehr selten trifft man aber während dieser Stadien zugrunde gehende Zellen.

Eine zweite Möglichkeit, die aber nicht bewiesen werden kann, ist die, daß die Eizellen ihre geringe Anzahl durch eine größere osmotische Wirksamkeit zu kompensieren suchen. Die von ihnen im Überschuß aufgenommene Nährflüssigkeit würde ins Innere der Nährkammer secerniert. Es ist auch nicht ganz ausgeschlossen, daß der große, zwischen den Oocyten liegende Zwischenzellkern (Fig. 2—10, Taf. XIII), der später besprochen wird, hierbei eine gewisse Rolle spielt. Ob er infolge dieser seiner hypothetischen Aufgabe als ein Rudiment einer ursprünglich vorhandenen Nährzelle (»Spengel«sche Zelle) anzusehen ist, kann nicht entschieden werden. Weiteres hierüber später auf Seite 133.

Entstünde diese Nährkammer mit ihrer »Furchungshöhle« nicht aus einem Komplex von mehreren Oogonien und Zwischenzellen (Fig. 2, Taf. XIII), sondern — wie das Ludwig (74) und Leydig (88) angegeben haben — aus einer einzigen Urkeimzelle, so könnte man sie mit gutem

Grunde als »parthenogenetische Blastula« bezeichnen. Jedenfalls sind diese Stadien ein treffliches Beispiel für die Convergenzerscheinungen auf cytologischem Gebiete.

Nährkammern mit zwei und mehr Eiern.

Alle Oocyten einer Nährkammer besitzen scheinbar die Fähigkeit, sich zu Reifeiern zu entwickeln. Daß sich vielleicht auf phylogenetisch älterer Stufe mehrere Eier, vielleicht auch alle Eier einer Kammer zu Reifeiern entwickelt haben, könnte man daraus schließen, daß man häufig Nährkammern mit zwei, seltener mit drei definitiven Eiern findet. Bei einem Tier fand ich fast in sämtlichen Nährkammern je zwei Eier entwickelt. Die Fig. 15—18, Taf. XIII, geben hiervon Zeugnis. In Fig. 15 liegen oben (zufällig nebeneinander) die beiden jungen, durch ihre Größe ausgezeichneten Eizellen. Meist liegen sie jedoch an verschiedenen Stellen der Nährkammer, sind also nicht aus der Teilung einer bestimmten, prädestinierten Oogonie hervorgegangen. Beide Eier können sich gleichmäßig weiter entwickeln (Fig. 17, Taf. XIII) und völlig normale Reifeier innerhalb eines Nährfaches bilden (Fig. 18, Taf. XIII). Es kommt aber auch vor, daß das eine Ei hinter dem andern zurückbleibt, oder daß sich erst später ein zweites Ei zu entwickeln beginnt. An diesen Stadien, z. B. Fig. 16, Taf. XIII, ist dann sehr schön die Passivität des Zellkernes beim Plasmawachstum zu erkennen. Trotz ihrer vielfachen Plasmamenge ist der Kern der rechten großen Eizelle völlig gleich dem des linken kleinen Eies. Der Zellkern hat demnach bei *Piscicola* keinen Einfluß auf das Plasmawachstum.

Ausbildung eines — der Spengelschen[1] [2] (früher Versonschen) Zelle analogen — Gebildes.

In der Regel wandern bei der Bildung der Nährfächer ein — gelegentlich auch zwei — Zwischenzellkerne unter Verlust ihres Protoplasmas zwischen die Ovogonien und werden mit diesen von den übrigen Zwischenzellen, die von jetzt ab einen regelrechten Follikel um das Nährfach

[1] Als erster hat Spengel (79) derartige Zellen als Centralzellen bei *Bonellia* beschrieben und richtig erkannt, daß sie keine Mutterzellen der Keimelemente sind. Ich schließe mich daher dem Vorschlag von Kuschakewitsch (10, S. 184) an, und nenne diesen Zelltypus »Spengelsche« Zelle. Erst 10 Jahre später fand Verson die gleiche, bisher nach ihm benannte Zelle bei der Seidenraupe und deutete sie als Spermatogonienmutterzelle.

[2] Spengel hat inzwischen (Deutsch. Zool. Ges. 1912) festgestellt, daß die Zelle doch Versonsche Zelle heißen muß, da seine vermeintliche Entdeckung von 1879 auf einem Irrtum beruhte. (Anm. d. Herausgebers, R. G.)

bilden, umgeben (Fig. 3 u. 4, Taf. XIII). Dieser Zwischenzellkern wächst bedeutend heran (Fig. 3—10, Taf. XIII), um dann später pyknotisch zu degenerieren (Fig. 11—16, Taf. XIII). Seine Reste sind noch während der Reifeteilungen des Eies nachzuweisen.

Der Beginn seiner Degeneration fällt zeitlich mit der ersten morphologischen Differenzierung der Eizelle zusammen. Fig. 10, Taf. XIII, zeigt die definitive Eizelle und den ausgebildeten Zwischenzellkern noch gleichzeitig; in Fig. 8 u. 11, Taf. XIII, beginnt seine Degeneration.

Ich möchte diesen extrem herangewachsenen Zwischenzellkern, der — wie nochmals betont — mit den Keimzellen keine genetischen Berührungspunkte hat, für den Kern einer — aus dem Zwischenzellmaterial hervorgegangenen — Nährzelle halten. Ähnliche Nährzellen sind ja unter dem Titel »Versonsche« Zelle bereits in vielen Tierstämmen bekannt geworden.

Als erster beschrieb sie — wie erwähnt — Spengel (79) bei *Bonellia*. Verson (89, 94) fand sie dann bei Lepidopteren. Auf die große Verbreitung dieser Zelle bei Insekten weisen die Befunde von Cholodkowsky (92 u. 94) hin, der sie außer bei Lepidopteren auch bei Neuropteren, Dipteren und Hemipteren fand.

Bei Lepidopteren wurden sie weiterhin noch gesehen von Toyama (94), v. la Valette St. George (97) und Grünberg (03) und zwar sowohl im Hoden wie im Ovar.

Bei Hirudineen (*Acanthobdella*) hat Livanow (06) die gleiche Zelle im Hoden, bei *Nephelis* Jörgensen (08) im Ovar nachgewiesen. In Parenthese möchte ich hier noch erwähnen, daß ich die gleiche Zelle auch in den kolbig verdickten Enden der freischwimmenden Eistränge von *Hirudo* und *Aulastomum* gefunden habe.

Neuerdings ist sie von Kuschakewitsch (10) sogar bei Wirbeltieren (Frosch) nachgewiesen worden. Sie soll sich dort, wie bei Nephelis und hier bei *Piscicola* aus indifferenten Elementen anlegen [im Gegensatz zu der besonders früher vertretenen Auffassung von ihrer spermatogonialen Herkunft].

Im Hoden wird dieser Zelle wohl im wesentlichen immer eine ernährende Funktion zugeschrieben.

Im Ovar hat sie aber diese, ihre ursprüngliche Funktion eingebüßt. Hier sind ja meist für jedes Ei zahlreiche Nährzellen (= abortive Eier), Follikelzellen usw. vorhanden, und so ist die nutritorische Funktion unsrer Spengelschen Zelle in den Hintergrund getreten (Grünberg 03, Jörgensen 08). Ihr Schicksal ist dann verschieden.

a) Während sie nach GRÜNBERG (03) ein funktionslos gewordenes Gebilde (im Lepidopterenovar) geworden ist, hat sie nach

b) JÖRGENSEN (08) einen Funktionswechsel erfahren und ist zur Stützzelle mit einem Gitterkörbchen um den Kern und zahlreich ausgebildeten Radiärfasern geworden.

c) Hier bei *Piscicola* kann man ihre Funktion als Nährzelle morphologisch nur schwer nachweisen. Ich glaube aber, daß sie bei ihrem enorm ausgebildeten Kern noch funktionstüchtig ist; — jedenfalls möchte ich sie nicht wie GRÜNBERG (03) für ein funktionsloses Gebilde erklären.

Wir können aber hier bei *Piscicola* annehmen, daß sie, wie im Hoden, auch hier im Ovar zuerst nutritorische Funktionen gehabt hat. Mit der immer mächtiger werdenden Volumzunahme des Eies hat aber unsre SPENGELsche Zelle ihre nutritorische Aufgabe nur unvollkommen erfüllen können. Zur Ernährung der Eier mußten außerdem auch noch andre Eier degenerieren, bis schließlich — innerhalb eines Nährfaches — in der Regel alle Eizellen bis auf eine zu Nährzellen wurden.

Damit war die Aufgabe unsrer ursprünglichen Nährzelle in der Hauptsache an die Abortiveier übergegangen. Sie selbst, bzw. ihr Kern, können ja aber auch weiterhin noch ernährende Funktion besitzen.

Dies scheint mir besonders in den Fällen zuzutreffen, wo nur eine geringe Anzahl von Abortiveiern vorhanden ist (Fig. 9—13, Taf. XIII). Man könnte hier vielleicht vermuten, daß der Kern der SPENGELschen Zelle durch die Produktion osmotisch wirksamer Substanzen — vielleicht mit an der Ausbildung der centralen Nährflüssigkeit der oben beschriebenen »Furchungshöhle« beteiligt ist.

Ein Funktionswechsel, z. B. ihre Umbildung zur Stützzelle, wie ich sie bei *Nephelis* beschrieben habe, ist bei *Piscicola* nicht erfolgt. Bei der kugeligen Gestalt der relativ kleinen Nährfächer werden Stützstrukturen nicht benötigt.

Hat die Nährkammer ihre definitive Größe erreicht, so degeneriert der Kern der SPENGELschen Zelle (Fig. 12, 13 u. folg., Taf. XIII). Nur in einem Falle sah ich eine Abweichung von dieser Regel. Es handelte sich um eine Nährkammer, deren Eier sich in Auflösung befanden. Ihr Protoplasma war zu einer gemeinsamen Masse zusammengeflossen; ihre Kerne klein und in Zerfall begriffen (Fig. 17, Taf. XIII). In dieser Kammer war ein schön ausgebildeter Zwischenzellkern vorhanden. Man könnte nun annehmen, daß sich in diesem abnormen Falle der Zwischenzellkern zum eigentlichen Eikern ausbilden könnte, ich habe aber keine weiteren Stadien dieser Art zu Gesicht bekommen, so daß in diesem Falle wohl der Untergang der Nährkammer besiegelt ist.

Bei der Zusammenfassung der Resultate erscheinen mir folgende Feststellungen von Wichtigkeit:

1. Schon auf den frühesten Stadien findet sich eine scharfe Sonderung von Ei- und Zwischenzellen, die demnach verschiedener Herkunft sein müssen. Die Eizellen liefern mit Ausnahme des Reifeies die Nährzellen, die Zwischenzellen bilden mit Ausnahme der »Versonschen« Zelle die Hülle der Nährkammer.

2. Ludwig (74) führt Ei- und Nährzellen auf eine einzige Zelle zurück. Diese Annahme ist daher falsch.

3. Leydig (88) erkennt den prinzipiellen Unterschied zwischen den Hüllzellen der Nährkammer (die sich vom Ovarialepithel ableiten sollen) und Ei- und Nährzellenkomplex. Seine Annahme, daß Ei- und Nährzellen aus einer einzigen Keimzelle hervorgehen, kann ich bei meinem Material nicht bestätigen. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß sich Standortsvarietäten dieser Art finden.

Die Niederschlagsmembran.

Schon in ganz jungen Nährzellfäden, in denen das definitive Ei eben durch seine Größe bemerkbar zu werden beginnt, kann man zwei Zonen im Eiplasma unterscheiden. Meistens ist die Zone um den Kern herum engmaschiger (feinwabiger) und daher stärker färbbar als das periphere, flüssigkeitsreichlichere Plasma (Fig. 1, Taf. XIV). Bei weiterem Wachstum des Eies bleiben in den meisten Fällen beide Zonen nachweisbar. Immerhin finden sich gelegentlich auch Eier, deren Plasma vollständig homogen erscheint (bei einer Größe, die zwischen der der Fig. 1 u. 2, Taf. XIV, liegt). Hat aber das Ei die Größe des Stadiums der Fig. 2, Taf. XIV, erreicht, so pflegen sich beide Protoplasmazonen scharf gegeneinander abzugrenzen.

Wir gehen wohl nicht fehl, wenn wir uns die Entstehung dieser beiden Zonen in einer und derselben Eizelle folgendermaßen vorstellen: Ursprünglich sind alle Zellen eines und desselben Nährzellfaches gleich. Schließlich beginnt eine von ihnen stärker zu wachsen. Dieses Wachstum wird wahrscheinlich eingeleitet durch für uns unkontrollierbare Vorgänge am Kern. An dem weiteren Plasmawachstum, das zum definitiven Ei führt, ist aber die Eizelle selbst unbeteiligt.

[Den Beweis für diese Behauptung erblicken wir darin:

1. Das Ei wächst auf Kosten der Follikelzellen, die bis zur eignen Erschöpfung ihr Plasma in das Ei hinein secernieren. Siehe Taf. XIII, Fig. 10.

2. Der Eikern bleibt während des ganzen Eiwachstums gleich groß. Er zeigt keinerlei Chromatinstrukturen, die auf eine erhöhte Aktivität hinweisen. Fig. 1—7, Taf. XVIII.

3. Außerdem ist er eingeschlossen in das ursprüngliche Eiplasma, das — wie die folgende Schilderung zeigen wird — scharf abgesetzt ist von dem Plasma, das die Nährzellen in das Ei hineinsecerniert haben.]

Bei weitem die Hauptmenge des Eiplasmas wird von den Nährzellen in das Ei hineinsecerniert. Der Abkürzung halber wollen wir das ursprüngliche Plasma des jungen, eben differenzierten Eies als Originalplasma, das von den Nährzellen in das Ei hineinsecernierte als Nährplasma bezeichnen. Beide Plasmaarten grenzen sich zu Beginn des Eiwachstums scharf voneinander ab, wahrscheinlich, weil sie nicht miteinander mischbar sind. Worauf dieses Verhalten beruht, muß bei unsrer morphologischen Untersuchungsmethode ungeklärt bleiben; man kann eine Differenz im Alkalescenz-, Salz-, Flüssigkeitsgehalt usw. vermuten.

Diese Abgrenzung ist am überlebenden Eimaterial ohne Reagentienzusatz nicht zu bemerken; weshalb sie auch Ludwig und Leydig entging. Montgomery (99), der eine *Piscicola rapax* untersuchte, hat sie auch am fixierten Material nicht gesehen bzw. nicht beachtet. Sie tritt aber bei jeder Fixation sehr deutlich hervor, indem sie an den Begrenzungsflächen beider Protoplasmaarten artifizielle Niederschlagsmembranen bildet[1]). Bei der Abgrenzung beider Protoplasmaarten gegeneinander kann man zwei Hauptmodifikationen unterscheiden:

I. Die lamellöse Abgrenzung

a) bei jugendlichen Eizellen.

Hat die Eizelle an Volumen ungefähr die Hälfte des Nährzellfaches erreicht, so findet man beide Plasmaarten durch einen scharfen — mit Chromatinfarben und E.-H. intensiv färbbaren — Kontur voneinander abgesetzt.

1. Diese Niederschlagsmembran kann als zusammenhängende lamellöse Kugel das Original- von dem Nährplasma trennen (Fig. 2, Taf. XIV). Die Grenzmembran kann aber auch nur teilweise ausgebildet sein (Fig. 2*a*, Taf. XIV).

2. Sehr häufig finden sich an der Niederschlagsmembran in gleicher Weise färbbare globulitische oder unregelmäßige Konglomerate, die wahrscheinlich zurückzuführen sind auf gelegentliche Aufrollungen oder Verbackungen von Teilen der Niederschlagsmembran (Fig. 3, Taf. XIV).

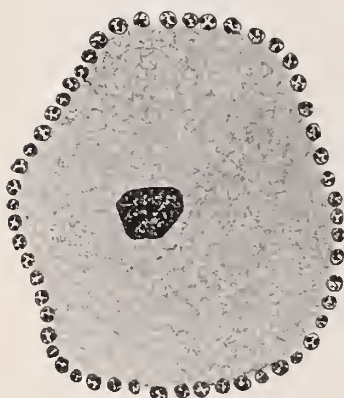
---

[1]) Auch bei Chladoceren ist nach Kühn (08) das Eiplasma da, wo Nährzellen liegen, anders beschaffen, als in den übrigen Teilen des Eies, so daß also auch hier sichtbare Anzeichen einer Differenz von Ei- und Nährplasma vorliegen. Bei den Ostracoden ist diese Secretion der Nährzellen morphologisch nicht nachweisbar (Schleip 1909).

Diese Aufrollungen sind vielleicht so zu erklären, daß im Moment der Fixation schon eine gewisse Verteilung beider Plasmaarten untereinander stattgefunden hat, so daß die Berührungsflächen nicht mehr scharf umrissen sind wie in Fig. 2 u. 2*a*, Taf. XIV, sondern kugelige und wurstförmige Gebilde aufweisen (Fig. 3*a*, Taf. XIV). Diese Würste sind nicht kompakt, sondern wie ihre centrale helle Innenzone zeigt, blätterteigartig aufgerollte Niederschlagsmembranen. Fig. 3*a* zeigt deutlich die so um den Kern entstandenen Gitterkörbchen im Querschnitt, Fig. 3*b* von der Flächenansicht.

3. Schließlich werden noch Fälle beobachtet, wo beide Plasmaarten nicht durch eine mehr oder weniger einheitliche Membran voneinander abgesetzt sind, sondern wo ein weit verzweigtes, das ganze Originalplasma durchsetzendes Faserwerk beide Plasmasorten trennt (Fig. 4, Taf. XIV), das schon in Fig. 2 durch gelegentliche Verzweigungen und Anastomoson der Niederschlagsmembran angedeutet ist.

Textfig. 1.



In dieser mannigfachen Weise können sich innerhalb des Eies beide Plasmasorten gegeneinander absetzen.

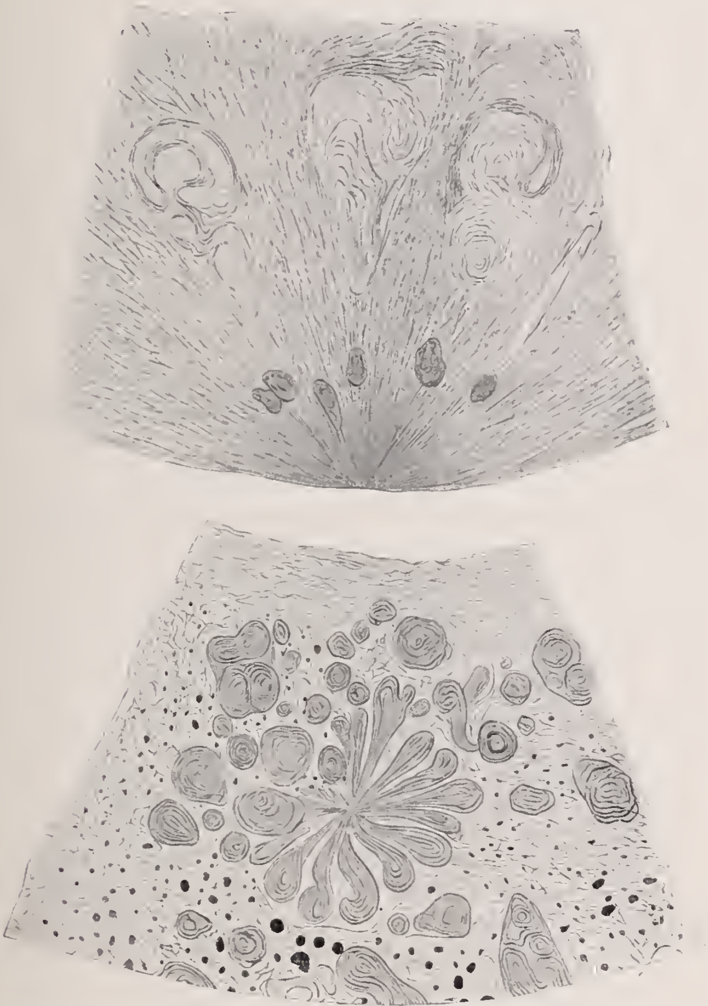
Wie verhalten sich nun die so entstandenen Niederschlagsmembranen bei weiterem Eiwachstum? Auch hier greifen wir aus der großen Mannigfaltigkeit der Bilder einige Typen heraus.

b) Bei wachsenden und ausgewachsenen Eiern.

1. Im einfachsten Fall können die Niederschlagsmembranen bis zur definitiven Eigröße unbeeinflußt vom Eiwachstum erhalten bleiben. Das innere Originalplasma hat sich allmählich in dem äußeren Nährplasma verteilt; an den Begrenzungsflächen beider finden sich die entsprechend vergrößerten Niederschlagsmembranen (Fig. 5, Taf. XIV). Diese können nun als unregelmäßig gewundene einzelne Lamellen oder Fäden im Plasma verteilt noch lange Zeit sichtbar sein, oder aber sie legen sich der Kernmembran an. Fig. 5*a*, Taf. XIV, zeigt den Beginn dieses Prozesses [von dem wir unentschieden lassen müssen, ob er zurückzuführen ist auf ein zufälliges Klebenbleiben der Fäden an der Kernmembran, oder ob durch einen Flüssigkeitsstrom auf den Kern zu die Lamellen-

bruchstücke passiv an den Kern herangeschwemmt werden]. Hierbei können die Lamellen in Bruchstücke zerfallen (Fig. 5*b*, Taf. XIV) oder

Textfig. 2.



Ausschnitt aus dem Plasma des *Proteus*-Eies. Strahlig ausgefallene Niederschlagsmembranen. Vergr. 330 ×.

aber in noch ziemlich großer Ausdehnung zusammenhängen (Fig. 5*c*, Taf. XIV). Schließlich finden sich die Membranen bzw. ihre Bruchstücke in unmittelbarer Berührung mit der Kernmembran (Fig. 5*b*, 5*c*

und besonders 5*d*, Taf. XIV), so daß man sich — zumal bei der großen Affinität der Niederschlagsmembranen zu Chromatinfarbstoffen — des Eindruckes, »als ob der Kern Chromatin ausschwitzt«, nicht erwehren kann (Fig. 5 u. 10, Taf. XV).

2. Eine zweite Modifikation ergibt sich daraus, daß sich das Originalplasma pseudopodienartig im Nährplasma zu verteilen sucht (Fig. 3, Taf. XV). Es buchtet sich äußerst kugelig vor (Fig. 6, Taf. XIV); hierauf können sich die einzelnen Kugeln von Originalplasma voneinander isolieren (Fig. 7, Taf. XIV und Fig. 7—9, Taf. XV). Entweder lösen sich nun diese Kugeln einzeln ab und sind einzeln im Plasma zu finden, wo sie oft dotterkernartige Gebilde vortäuschen (Fig. 7*a*, Taf. XIV), oder aber sie bilden breite, das ganze Nährplasma durchsetzende Pseudopodien (Fig. 8, Taf. XIV und Fig. 4 u. 12, Taf. XV). Hier bildet das Originalplasma noch eine zusammenhängende Masse. Schließlich zerreißen aber die Niederschlagsmembranen und verteilen sich fädig im Nährplasma. Das Originalplasma mischt sich mit diesem bis auf wenige, kugelige oder unregelmäßige, dunkler gefärbte Inseln (Fig. 9, Taf. XIV).

Einzelne Reste dieser Niederschlagsmembranen oder Grenzlamellen erhalten sich sehr lange und sind noch während der Reifeteilungen nachzuweisen. Ich mache hier auf die interessanten Fig. 4 u. 5, Taf. XVI, aufmerksam, wo sich die fraglichen Reste in Gestalt stark gefärbter, scheinbar längsgespaltener Fäden und (in Fig. 5, Taf. XVI, oben) in Form von großen, flächenartig getroffenen Lamellen erhalten haben. Die Sphärenstrahlung des oberen Centriols hat sich mit dieser Lamelle in Verbindung gesetzt und sie zipfelig ausgezogen. Diese Reste können ganz und gar in die Sphärenstrahlung einbezogen werden (Fig. 16, Taf. XVIII), so daß sie mit ihren Längsfasern in den radiären Verlauf der Polstrahlung eingestellt werden. Diese Bilder erinnern auffällig an die später noch zu erwähnenden Niederschlagsmembranen im *Proteus*-Ei, die (bei der Fixation) gleichfalls um einen Mittelpunkt herum strahlig ausfallen können (Textfig. 2).

3. Es wird aber auch beobachtet, daß die Niederschlagsmembranen als solche nicht mehr vorhanden sind, sondern daß sich beide Plasmasorten schlierenartig durchsetzen, ohne sich zu mischen. Einen derartigen Fall zeigt Fig. 10, Taf. XIV. Wir sehen das Nährplasma durchsetzt von dicken, lamellösen Zügen, die aber hier nicht als Niederschlagsmembranen zu deuten sind (färben sie sich doch heller als diese), sondern als Schlieren von dunkel gefärbtem Originalplasma, das sich im ganzen Nährplasma verteilt hat.

II. Die emulsionsartige Verteilung des Original- im Nährplasma.

Neben dieser Verteilung, die zur Bildung lamellöser Niederschlagsmembranen oder zur schlierigen Durchsetzung der beiden Plasmasorten führt, findet sich noch folgende, bemerkenswerte Modifikation. Hat das Ei eine bestimmte Größe erreicht, so fällt das gesamte Originalplasma, das bisher noch nicht von dem Nährplasma abgegrenzt war, in Tropfenform aus. Die Fig. 11 u. 12, Taf. XIV, zeigen diese emulsionsartige Ausfällung bei einer und derselben Zelle (siehe auch Fig. 11, Taf. XV). Das in zahlreichen Kugeln angeordnete Originalplasma bildet eine dichte Zone um den Kern, der nur im Querschnitt sichtbar (Fig. 11, Taf. XIV und XV), bei Oberflächenansicht aber vollständig verdeckt wird von den intensiv gefärbten Originalplasmakugeln (Fig. 12, Taf. XIV). Auch hier werden beide Plasmaarten durch eine scharf umschriebene, stark tingierbare Niederschlagsmembran voneinander abgesetzt, die die Oberfläche des kugelig suspendierten Originalplasmas begrenzt. Bei weiterem Wachstum verteilen sich diese Kugeln im ganzen Plasma (Fig. 13 und 14, Taf. XIV) und werden schließlich an die Zellperipherie verlagert (Fig. 15, Taf. XIV), wo sie noch lange — bis zur Ausbildung der I. Richtungsspindel im Plasma anzutreffen sind (Fig. 6 und 9, Taf. XVI).

Bei dieser Modifikation ist besonders schön zu verfolgen, daß sich im Verlauf des Eiwachstums mehrere zeitlich aufeinanderfolgende Niederschlagsmembranen bilden können. So zeigt uns Fig. 23, Taf. XIV, außer dem globulitisch ausgefallenen Originalplasma eine zweite, innerhalb der Zellmembran gelegene, konzentrisch zu ihr ziehende Niederschlagsmembran. Diese erklärt sich wahrscheinlich so, daß sich auch zwischen dem zuerst secernierten und zwischen dem später gelieferten Nährplasma eine chemische oder physikalische Differenz findet. Wie diese zustande kommt, ist unsicher. Einmal kann das zuerst gelieferte Nährplasma von vornherein verschieden sein von dem später secernierten, oder aber das erste Nährplasma wird durch den Eikern oder das Originalplasma derart verändert, daß es sich bei anfänglicher Gleichartigkeit, später nicht mehr mit dem weiterhin secernierten Nährplasma mischen kann. Bei der Fixation entsteht dann auch zwischen beiden Nährplasmen eine Niederschlagsmembran. Diese zeitlich immer später auftretende und immer parallel zur Zelloberfläche angeordnete zweite Membran ist deutlich zu sehen bei den Stadien der Fig. 9, 11, 12 und besonders 13, Taf. XIV.

Die hohe Affinität der Niederschlagsmembranen zu den »Chromatinfarbstoffen«.

Wie erwähnt, färben sich die Niederschlagsmembranen im hohen Grade mit den gebräuchlichen Chromatinfarbstoffen: Boraxcarmin, Delafield, Safranin. Taf. XV zeigt uns einige bei Doppelfärbungen erhaltene Bilder, und zwar sind die Fig. 1—10 nach Safranin-Lichtgrün [ähnliche Resultate ergab z. B. Boraxcarmin-Bleu de Lyon], die Fig. 11 bis 13 nach Delafield-Eosin-Präparaten gewonnen.

Diese starke Affinität der Niederschlagsmembran ist wahrscheinlich ein physikalisches Phänomen, bedingt durch die [im Vergleich zum übrigen Plasma größere] Dichte der Niederschlagsmembran. Für ihren plasmatischen Charakter sprechen andre Mehrfachfärbungen, z. B. Mallori, bei denen sie z. B. denselben gelben Farbton annimmt wie das Protoplasma, nur intensiver, während der chromatische Nucleolus sich stark rot färbt (Fig. 14, Taf. XV).

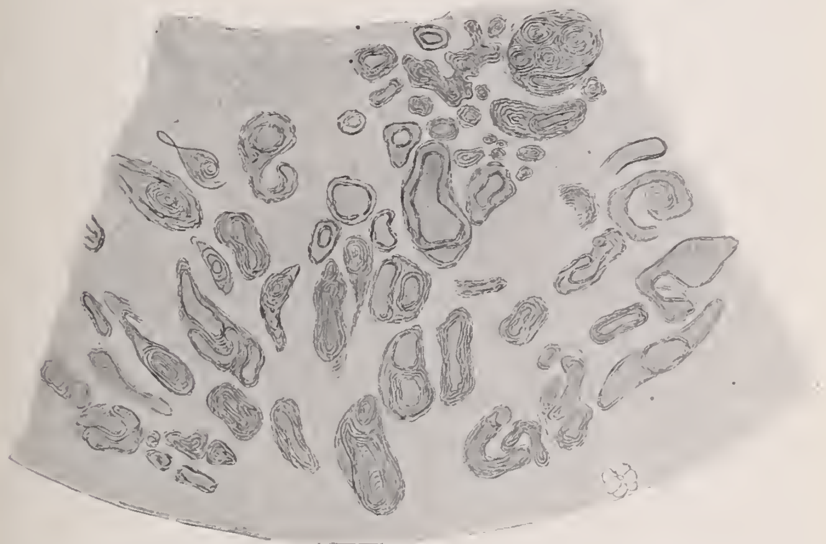
Niederschlagsmembranen, die sich bei Fixierung an den Grenzen zweier nicht mischbaren Flüssigkeiten ausscheiden, scheinen sich doch öfter zu finden, wenn sie auch wenig beachtet werden. So habe ich sie besonders schön ausgebildet gefunden im Plasma des *Proteus*-Eies, wo sie als morphologischer Ausdruck eines specifischen Plasmas ganz enorme blätterteigartige Massen bilden können. Zum Vergleich gebe ich hier ein Bild aus meiner *Proteus*-Arbeit (10) als Textfig. 3. Das Spezielle ist ebendort Seite 553 ff. nachzulesen. Ähnliche Niederschlagsmembranen scheint Lams (07) beim Froschei gesehen zu haben. Es ist mir wahrscheinlich, daß viele stark färbbare Einschlüsse in Ei- und Drüsen- (Pancreas-)zellen, die heute als Chromidien, Chondriokonten usw. angesprochen werden, bei genauer Untersuchung sich als derartige — durch unsre Fixierung hervorgerufene — Niederschlagsmembranen werden auflösen lassen.

Das *Piscicola*-Ei ist ein sehr instruktives Beispiel dafür, daß sich innerhalb des Plasmas »chromatische« Einschlüsse finden, von denen wir angeben können, daß sie nicht aus dem Kern stammen, sondern im Plasma entstanden sind. Betrachten wir speziell die Fälle, in denen die fraglichen Einschlüsse dem Kern dicht angelagert sind (Fig. 5 u. 10, Taf. XV), und die von vielen Forschern auf Grund ihrer färberischen Reaktion als aus dem Kern ausgetretenes Chromatin gedeutet werden. Sind doch die Charakteristika für Plasmaeinschlüsse, auf Grund deren die Diagnose »Chromidium« erfolgt, bei den zahlreichen, weiter unten erwähnten Forschern folgende:

1. Färbung mit Chromatinfarben (Baroxcarmin, DELAFIELD, Safranin).
2. Unmittelbare Lage am Kern.
3. Gleichzeitige Chromatinarmut des Kernes.

Diese drei Faktoren treffen aber auch für das *Piscicola*-Ei zu, wo es sich um rein plasmatische artifizielle Niederschläge handelt. Diese drei Merkmale sind daher für die Identifizierung eines Plasmaeinschlusses mit den »Chromidien« ungenügend. Soll daher der Beweis von der chromidialen Natur eines im Plasma suspendierten Einschlusses erbracht werden,

Textfig. 3.



Niederschlagsmembranen im Plasma des *Proteus*-Eies. Vergr. etwa 220 ×. (Nach JÖRGENSEN, 10.)

so muß außerdem noch der chemische Beweis von der Chromatinnatur des fraglichen Körpers geführt werden. Dieser Beweis läßt sich auf den Nachweis der Nucleinsäurekomponente in dem betreffenden Plasmaeinschluß gründen. Der Nachweis dieser Komponente erfolgt durch die Pepsinverdauung, die diese Komponente nicht angreift.

In fast allen Arbeiten, die sich mit Chromidialstrukturen befassen, ist aber dieser für die chromatische Natur des »Chromidiums« ausschlaggebende Verdauungsnachweis nicht geführt. Es ist daher in vielen Fällen anzunehmen, daß die betreffenden Autoren einem Irrtum zum Opfer gefallen sind, insofern als sie Gebilde beschrieben haben, die sich zwar mit den sogenannten Kernfarbstoffen Boraxcarmin, DELAFIELD, Safranin

usw. färben, die aber [wie hier die Niederschlagsmembranen oder wie das chromatische Prosecret der *Piscicola*-Hautdrüsen] keineswegs aus dem Kern zu stammen brauchen. Es sei mir gestattet, die Arbeiten, in denen — meiner Meinung nach — ein überzeugender Beweis für die chromidiale Natur der betreffenden Plasmaeinschlüsse nicht erbracht ist, hier aufzuführen. Diese Arbeiten sind folgende: Goldschmidt (04, 05, 09), Moroff (09), Jörgensen (10a), Popoff (06, Homologisierung, 07 *Paludina*, 10, *Musca*), Schaxel (sämtliche Arbeiten), Ehrhardt (10), Isakowitsch (10). Im einzelnen muß ich auf meine Ausführungen in meinem speziellen »Beitrag zum Chromidialapparat« verweisen, der gleichzeitig mit dieser Mitteilung erscheint.

Ziehen wir außerdem noch in Betracht, daß nach den (bisher meist übersehenen) Angaben von Mathews (98) die salzartigen Verbindungen jeder organischen Säure mit basischen Eiweißkörpern eine chromatische Färbung des Plasmas bedingen, so sehen wir, wie sich die Fehlerquellen, die der Lehre vom Chromidialapparat drohen, mit der Erweiterung unsrer Kenntnisse immer mehr häufen.

Die erste Richtungsspindel.

A. Die achromatischen Bestandteile.

1. Die Centriole während des Eiwachstums.

Die Centriole scheinen während des ganzen Eiwachstums vorhanden zu sein. Schon in ganz jungen Eiern von 30—40 μ Größe sind sie als kleine, distinkt gefärbte Körnchen der Kernmembran von außen dicht angelagert (Fig. 1, Taf. XVI). Sie sind sicherlich schon in noch früheren Stadien vorhanden, entgehen aber dort leicht der Beobachtung infolge ihrer Kleinheit und infolge der körnigen Beschaffenheit des Plasmas. Aus eben diesem Grunde konnte auch die Teilung des wahrscheinlich ursprünglich in Einzahl vorhandenen Centriols in die später sichtbaren Tochtercentriole (Fig. 1, Taf. XVI) nicht beobachtet werden. Beide Centriole können schon auf frühen Stadien an entgegengesetzten Polen der Kernmembran liegen (Fig. 1 u. 3, Taf. XVI), oder aber sie bleiben nach ihrer vermutlichen Teilung nahe beieinander liegen (Fig. 2, Taf. XVI).

Während des Eiwachstums rufen sie nur eine sehr geringe, oftmals gar keine Plasmastrahlung hervor. Im allgemeinen zeigen jedoch die Centriole älterer Eier eine ausgeprägte Strahlung, die jedenfalls auf die bedeutende Größenzunahme der Centriole während des Eiwachstums zurückzuführen ist (Fig. 4, Taf. XVI).

Die Centriole sind in den Eizellen von *Piscicola* auch während der mehrmonatigen Herbst- und Winterruhe vorhanden. So fand ich in Tieren, die im November konserviert waren, und die nur junge Nährkammern mit mittelgroßen Eiern aufwiesen, in letzteren die beiden Centriole, die teilweise die oben beschriebene, unbedeutende Strahlung aufwiesen.

Diese Persistenz des Centriols während der langen Winterruhe beweist, daß wenigstens beim *Piscicola*-Ei die Centriole dauernd vorhandene Zellorganellen sind.

Schon auf den frühesten Stadien weisen die Centriole die Form von viereckigen Würfeln auf (Fig. 2, Taf. XVI). In diesen kann man schon jetzt bisweilen einen deutlichen Längsspalt wahrnehmen. Da dieser erst während der Ausbildung der Richtungsspindel deutlicher hervortritt, soll er erst später besprochen werden.

2. Die während der Kernauflösung erfolgende Rückbildung der Centriolenstrahlung.

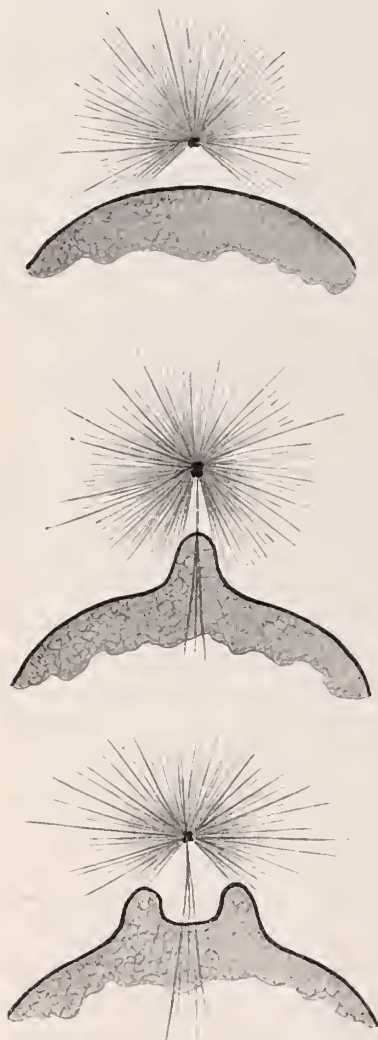
Hat das Ei seine definitive Größe erreicht, so wird die Strahlung der gleichfalls herangewachsenen Centriole, die immer noch ihre alte Lage dicht an der Kernmembran bewahrt haben, größer und deutlicher (Fig. 4, Taf. XVI), und kann schließlich die Zellperipherie erreichen (Fig. 5, Taf. XVI). Jetzt rücken nun die Centriole etwas von der Kernmembran ab, so daß zwischen Centriol und Kernmembran ein Dreieck entsteht, das von zwei tangential nach dem Kern zu verlaufenden Strahlen begrenzt wird. An den Berührungsstellen wird die Kernmembran ein- oder zweizipfelig ausgezogen (Fig. 6, Taf. XVI und Textfig. 4). An dieser Stelle scheint demnach das Einreißen oder die Auflösung der Kernmembran, die selbst nicht beobachtet wurde, eingeleitet zu werden.

Sehr wichtig erscheint mir nun der folgende Vorgang: Ist die Kernmembran aufgelöst, so rücken die beiden Centriole, die erst einen Abstand von 25 μ aufwiesen, bis auf 10 μ aneinander (Fig. 1 u. 1*a*, Taf. XVII). Gleichzeitig wird die vorher ausgebildete, nicht unbedeutende Strahlung (Fig. 4—6, Taf. XVI) fast vollständig zurückgebildet. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß diese Rückbildung der Strahlung — mit der eine Volumabnahme des Centriols selbst verbunden zu sein scheint, —, mit der Kernauflösung zusammenhängt. Durch diese gelangt der Kernsaft in das Plasma (Fig. 1, Taf. XVII), in dem er sich allmählich verteilt. Durch die so veränderte Umgebung scheint die osmotische Fähigkeit des Centriols, die sich morphologisch in der Strahlen-

bildung und in dem Wachstum des Centriols selbst äußert, herabgesetzt zu werden.

Die bereits gebildeten Strahlen werden aufgelöst; das Centriol schrumpft wieder zusammen.

Textfig. 4.



Diese auf die Kernauflösung zurückführbare Degeneration der Plasmastrahlung zeigt die große Labilität dieser vom Centriol hervorgerufenen Plasmacentrierung.

Ich möchte diese vorübergehende Rückbildung der Reifespindelstrahlung im *Piscicola*-Ei mit experimentell herbeigeführten, analogen Vorgängen im Echinodermenei vergleichen. Schon vor 25 Jahren haben die Gebrüder Hertwig (87) gezeigt, daß durch Kälte- und Giftwirkung (Chinin und Chloralhydrat) die Plasmastrahlungen im Echinodermenei zurückgebildet werden. Auch andre schädigende Reagentien wie Äther, hypertonische Lösungen (Hindle 10), CO_2-Einwirkung (Buchner 11) u. a. bewirken die gleiche Rückbildung der Strahlung.

Wir müssen daher annehmen, daß alle diese Faktoren die (osmotische?) Wirksamkeit des Centriols durch Einwirkungen auf dieses selbst oder durch Veränderung seiner Umgebung herabsetzen.

Bei *Piscicola* lernen wir nun einen neuen Faktor kennen, der, wenn auch nur vorübergehend, eine ähnliche Schädigung des Centriols hervorruft.

Die Auflösung des eignen Eikernes und die dadurch bedingte Änderung in der Beschaffenheit des Eiplasmas beeinflußt das Centriol derartig, daß seine bedeutend ausgebildete Strahlung vorübergehend zurückge-

bildet wird, genau so wie bei der Einwirkung der oben geschilderten schädigenden Faktoren. Gleichzeitig findet bei *Piscicola* eine merkliche Verkleinerung des Centriols statt.

3. Die Ausbildung der ersten Richtungsspindel.

Die beiden bis auf 10 μ genäherten Centriole rücken allmählich bis auf 36 μ Abstand auseinander. Hierbei treten mehrere centroplasmatische Zonen um jedes Centriol auf. In den frühesten Stadien, Fig. 1*a* und 2, Taf. XVII, sind die winzigen Centriole nur von äußerst wenigen Strahlen umgeben. Allmählich scheinen sich aber die Centriole ihrer neuen Umgebung anzupassen und eine kräftige osmotische Wirksamkeit zu entwickeln. Diese offenbart sich in einer bedeutenden Volumzunahme des Centriols selbst (Fig. 3, 5—11, Taf. XVII, und besonders Fig. 7, Taf. XVI), und in dem Auftreten der erwähnten Centroplasmen.

a) Die Gestalt der Centriole

ist während ihrer Volumzunahme deutlich zu erkennen. Jedes Centriol besteht aus einem »tetradenähnlichen Gebilde«. Es läßt immer einen deutlichen Längsspalt erkennen, besteht demnach wahrscheinlich aus zwei nebeneinander liegenden länglichen Stäbchen. Diese zeigen außerdem noch sehr häufig eine quere Einschnürung (Fig. 5, 6, 7, 10, 11, Taf. XVII, und besonders deutlich Fig. 7, Taf. XVI). Ob der »Längsspalt« des Centriols als Teilungsebene, jedes längliche Stäbchen also als Tochtercentrial aufzufassen ist, muß unentschieden bleiben, da eine Teilung des Centriols nicht beobachtet wurde. Zur Sicherstellung dieser Frage müßten die Eier nach der Eiablage untersucht werden, gewiß eine dankbare Aufgabe in Anbetracht des schönen, großen Objektes, das überall leicht zu erhalten ist.

Es ist fernerhin jedoch auch möglich, daß der »Längsspalt« nur ein optisches Phänomen ist, wie bei den längsgespaltenen Lampenbürstenchromosomen bei *Proteus* (Jörgensen 10), bei den längsgespaltenen Spermatidenköpfen von *Pygära* u. a. m.

Was die quere Einschnürung der beiden — je ein Centriol bildenden Stäbchen zu bedeuten hat, ist völlig rätselhaft. Sie ist entweder nur eine zufällige morphologische Eigentümlichkeit der (fraglichen) Tochtercentriole, oder sie präformiert die Enkelcentriole. Letzteres ist unwahrscheinlich, da ja nach der üblichen Auffassung die Centriole des Eies nach der zweiten Richtungsspindel verschwinden sollen.

Diese atypische »Tetraden«form stellt die *Piscicola*-Centriole neben die bisher beschriebenen, stäbchen-, haken- und V-förmigen Centriole von *Pygära*, *Hydrophilus*, *Blatta*, *Myxine* u. a.

Volumschwankungen der Centriole.

Ich möchte hier besonders noch einmal auf die enormen Volumschwankungen der Centriole hinweisen. Diese sind nicht etwa ein Differenzierungsartefact, sondern zeigen einen streng gesetzmäßigen Verlauf:

Das winzig kleine Centriol der jungen Oocyte schwillt bei intakter Kernmembran beträchtlich an (vgl. Fig. 1 mit Fig. 5, Taf. XVI); nimmt dann bei Auflösung der Kernmembran wieder an Volumen ab [jedenfalls infolge einer vorübergehenden »Schädigung« durch den freiwerdenden Kernsaft] (vgl. Fig. 5, Taf. XVI, mit Fig. 2, Taf. XVII), wächst schließlich bei Ausbildung der ersten Richtungsspindel wiederum enorm heran (vgl. Fig. 2 mit Fig. 10, Taf. XVII), um endlich nach maximaler Ausbildung der ersten Richtungsspindel wieder einen beträchtlichen Volumenrückgang zu erleiden (vgl. Fig. 7 mit Fig. 9, Taf. XVII).

Mit diesen periodischen Volumschwankungen des Centriols laufen periodische Schwankungen der Sphärenstrahlung völlig parallel:

Das kleine Centriol der jungen Oocyte hat fast gar keine Strahlung (Fig. 1, Taf. XVII). Mit dem Anwachsen des Centriols nimmt auch die Strahlung zu (Fig. 5, Taf. XVI). Ist nach der Auflösung der Kernmembran die Größe des Centriols zurückgegangen, so ist auch seine Strahlung fast verschwunden (Fig. 2, Taf. XVII). Wächst nun das Centriol im Verlauf der Ausbildung der ersten Richtungsspindel wieder heran, so verstärkt sich auch seine Sphärenstrahlung (Fig. 7, Taf. XVI), um schließlich mit der Centriolengröße wieder abzunehmen (Fig. 9, Taf. XVI).

Hierbei ergibt sich noch folgender bemerkenswerte Unterschied. Die Centriole vor der Kernauflösung (Fig. 4—6, Taf. XVI) sind mittelgroß und rufen deshalb nur eine mittelgroße Strahlung hervor; — die Centriole bei Ausbildung der ersten Richtungsspindel zeigen eine enorme Größe (Fig. 7, Taf. XVII) und bewirken auch eine das ganze Ei durchsetzende Strahlung, bis sie schließlich das gesamte Eiplasma zu einer Anzahl konzentrischer Centroplasmen konzentriert haben (Fig. 7 bis 9, Taf. XVI).

Es ist mir nicht bekannt, daß derartige gesetzmäßige periodische Schwankungen der Centriolengröße bisher beschrieben wurden, bleibt doch z. B. nach Gurwitsch, allerdings schon 1904, S. 304, »das Centriol

in all den Fällen, wo es sich als ein solches sicher diagnostizieren läßt, stets von derselben Größe . . .«.

Diese periodischen Volumschwankungen der Centriolengröße scheinen mir nun die alte Annahme BÜTSCHLIS (76) zu bestätigen. Schon damals hatte ja BÜTSCHLI die Vorstellung ausgesprochen, daß die Strahlungsfigur, die sich bei der Kernteilung um das Centrosom bildet, ein Ausdruck von Diffusionsvorgängen sei, die zwischen dem Centrosom und dem Protoplasma entstehen. Es sei wahrscheinlich, daß die Centrosome oder Sphären, die während der Mitose eine bedeutende Volumzunahme erfahren, durch Wasser- (Enchylem)entziehung auf die Wabenwände einen Zug ausüben und dadurch die Waben in strahlenförmige Reihen ausziehen; Vorstellungen, die durch die bekannten Gelatineluftblasenversuche eine gewisse experimentelle Stütze erhielten.

Unser Objekt zeigt nun, daß sogar schon das Centriol, das ja nach all den neueren Arbeiten von KOSTANECKI, WILSON, VAN DER STRICHT, VEYDOVSKY und MRAZEK, HEIDENHAIN u. a. — dort, wo es vorhanden ist — als das eigentliche, die Strahlung erzeugende Organell angesehen wird, sein Volumen vergrößern kann, daß es also in der Tat Substanz aus dem umgebenden Plasma aufnimmt.

Diese Beobachtung von der Parallelität zwischen Centriolengröße einer- und Strahlungsintensität andrerseits, scheint mir für die alte BÜTSCHLIsche Annahme zu sprechen.

b) Die Centroplasmen während der ersten Reifungsteilung.

In den jüngsten Spindeln ist das Centriol allein der Mittelpunkt der jeweils mehr oder weniger ausgeprägten Strahlung[1]). Haben die Centriole wieder einen Abstand von etwa 16 μ erreicht, so verdichtet sich ein Teil des strahligen Plasmas um das Centriol (Fig. 4, Taf. XVII). Diese Plasmazone differenziert sich auf zweierlei Arten, die jedoch nur zeitliche Differenzen darstellen.

1. Einmal kann sich die centrale Partie der verdichteten Plasmazone in nächster Umgebung des Centriols zu einem völlig homogenen und scharf umschriebenen ersten Centroplasma abgrenzen (Fig. 7, Taf. XVII). Nach dieser Abgrenzung beider Plasmazonen entsteht zwischen beiden

---

[1]) Es ist also anzusehen als das in allen Wachstumsstadien des Eies persistierende Centralorgan, das den Centralkörperchen der Gewebezellen gleichzusetzen ist. All die komplizierten centroplasmatischen Zonen (einschließlich des »Centrosoms«) sind vorübergehende Plasmadifferenzierungsprodukte, die in der Regel auf das Ei beschränkt sind und bei Gewebezellen überhaupt nicht vorkommen.

eine hellere Zone (Fig. 8, Taf. XVII), die immer breiter wird (Fig. 9 u. 10, Taf. XVII) und schließlich die ansehnliche Breite der Fig. 11 u. 12, Taf. XVII, und Fig. 8, Taf. XVI, erreichen kann.

2. Diese helle Zone kann bereits vorhanden sein, ehe das das Centriol unmittelbar umgebende erste Centroplasma angelegt oder ausgebildet ist. So zeigt uns Fig. 5, Taf. XVII, die verdickte Plasmazone getrennt vom Centriol durch einen gleich breiten hellen Zwischenraum. Bei genauerem Studium findet man aber auch hier das Centriol schon von einem ganz schmalen homogenen Plasmasaum umgeben. Dieser wird breiter (Fig. 6 u. 11, Taf. XVII) und stellt dann das erste Centroplasma (= Boveris Centrosom) dar, das — wie Fig. 10, Taf. XVII, zeigt — eine ganz beträchtliche Größe und scharf umrissene Gestalt annehmen kann, ja zuweilen von einer distinkten Grenzmembran (artifiziell?) umgeben zu sein scheint. In den meisten ausgebildeten ersten Richtungsspindeln ist dieses erste — unmittelbar das Centriol umgebende Centroplasma vorhanden (Fig. 8, Taf. XVI; Fig. 10, 11, 12, 13, 14, Taf. XVII). In Fig. 12, Taf. XVII, ist es intensiv mit E.-H. gefärbt; die Centriole sind infolge Überfärbung nicht herausdifferenziert.

Meist zeigt dieses erste Centroplasma die erwähnte, scharfe Begrenzung. Es kann aber — besonders in jungen Spindeln — auch eine unregelmäßige Oberfläche aufweisen (Fig. 8 u. 9, Taf. XVII).

Seine Ausbildung kann jedoch bemerkenswerterweise auch unterbleiben. So sehen wir in Fig. 7 und besonders in Fig. 8, Taf. XVI, die eine ausgebildete erste Richtungsspindel darstellt, die Sphärenstrahlen direkt (unter Ausfall des ersten verdichteten Centroplasmas = Centrosom) am Centriol inserieren.

Wir möchten nun dieses erste Centroplasma gemäß seiner Entstehung infolge Verdichtung des Plasmas unmittelbar um das Centriol herum, als erste centroplasmatische Verdichtungszone bezeichnen. Wir gehen wohl nicht fehl, wenn wir sie als Centrosom Boveris bei *Ascaris* ansprechen.

Sie ist also, wenn überhaupt vorhanden, bei *Piscicola* kein Dauerorganell, sondern entsteht im Laufe der Ausbildung der ersten Richtungsspindel durch Plasmaverdichtung um das Centriol.

Seine Struktur kann eine zweifache sein.

In vielen Fällen ist es strahlig gebaut (Fig. 8, Taf. XVI, und Fig. 4 u. 11, Taf. XVII); in andern sieht es dagegen völlig homogen aus, wie das *Ascaris*-Centrosom (besonders schön in Fig. 10, Taf. XVII). Ich möchte den strahligen Bau für den der Natur entsprechenden, den homogenen für den artifiziell abgeänderten halten. (Boveri hat für das

Ascaris-Centrosom eine homogene, von Kostanecki u. a. eine radiäre Struktur angegeben. Die letztere Angabe finden wir auch für das *Scolopendra*-Centrosom von Blackman bestätigt. Auch durch diese Angaben wird das »Centrosom« seiner specifischen Stellung als Teilungsorganell entkleidet und als ein vorübergehender Zustand jener so mannigfaltigen centroplasmatischen Zonen hingestellt)[1]).

Die helle Plasmazone, die sich der ersten centroplasmatischen Verdichtungszone (Centrosom) von außen anlegt, möchte ich als erste centroplasmatische Erschöpfungszone bezeichnen, weil es den Anschein hat, als ob sie infolge (in manchen Fällen auch nach) der Ausbildung der inneren Verdichtungszone entstanden sei.

Auf diese erste Erschöpfungszone folgt nach außen zu eine zweite centroplasmatische Verdichtungszone. Von geringem Umfange (Fig. 5, Taf. XVII) kann sie allmählich (Fig. 6, Taf. XVII) bis zu der enormen Größe der Fig. 10, Taf. XVII, und Fig. 8, Taf. XVI, heranwachsen. Zuweilen kann ihr nach außen zu noch eine verdichtete Centroplasmazone angelagert sein (Fig. 7, Taf. XVI). Auf diesem Stadium fehlt aber dann die das Centriol unmittelbar umgebende Verdichtungszone (Centrosom).

Das gesamte centrale Eiplasma sammelt sich in dieser zweiten centroplasmatischen Verdichtungszone, das eine körnige bis radiär-faserige Struktur aufweist (Fig. 8, Taf. XVI, und Fig. 10, Taf. XVII).

Peripherwärts liegt eine zweite große Erschöpfungszone, die (im Gegensatz zur ersten Erschöpfungszone, die ja nur je ein Centriol umgab) die gesamte Richtungsspindel umfaßt und sie vollständig von dem übrigen, peripher verlagerten, körnigen Eiplasma trennt (Fig. 8, Taf. XVI).

Das ganze Eiplasma zerfällt demnach auf dem Stadium der ausgebildeten ersten Richtungsspindel in drei große ineinander geschachtelte Kugelschalen. Die innerste stellt die Richtungsspindel mit ihren Sphärenapparaten dar, die von der äußersten, ectoplasmatischen Kugelschale durch die zweite, große Erschöpfungszone getrennt ist. Den Beginn dieser zonalen Differenzierung zeigt Fig. 7, Taf. XVI, während die Fig. 8 u. 9, Taf. XVI, die drei Zonen in voller Ausbildung klar machen.

Die Richtungsspindel von *Piscicola* ist in zweierlei Hinsicht interessant.

---

[1]) Überhaupt nicht vorhanden ist das erste Centroplasma (= Centrosom) vor der Auflösung der Kernmembran (Fig. 4—6, Taf. XVI) und in vielen Fällen auch während der Ausbildung und bei ausgebildeter erster Richtungsspindel (Fig 7 u. 9, Taf. XVI), in denen aber die übrigen mehr peripher gelegenen Centroplasmen vorhanden sind.

I. Sie durchsetzt im ausgebildeten Zustand das Ei in seinem ganzen Durchmesser. Diese Größe der Richtungsspindel bezeichnet wahrscheinlich einen primitiven Zustand, der noch an eine normale Teilung des Eies in zwei gleiche Hälften erinnert; ein Teilungsmodus, der ja jetzt noch bei den Reifeteilungen der Spermatocyten üblich ist und in phylogenetisch frühen Zeiten auch für das Ei angenommen wird. Dieser primitive Typus findet sich nur bei kleinen dotterarmen Eiern und zwar meistens nur vorübergehend z. B. bei *Ophryotrocha* (Korschelt 95), *Myzostoma* (von Kostanecki 98), *Limax* (Obst 00), *Polystomum* (Goldschmidt 02), *Nephelis* (Jörgensen 08), *Arion* (Lams 10) u. a. m.

Wie ja für viele Formen bekannt, stellt auch bei *Piscicola* die erste Richtungsspindel ein Ruhestadium dar, auf dem die Eier bis zu ihrer Ablage verharren.

Die Dotterbildung ist in den Eiern von *Piscicola* auf ein Minimum reduziert, da ja die Eier kokonweise mit großen Eiweißmassen abgelegt werden.

II. Fassen wir die Ausbildung der Sphärenstrahlung während der Genese der ersten Richtungsspindel in ihren Hauptzügen noch einmal an der Hand eines Schemas (Textfig. 5) zusammen, so werden wir übersichtlich ihrer hohen Komplikation bewußt.

1. Unmittelbar nach der Kernauflösung ist das nackte Centriol allein mit geringer Strahlung vorhanden Textfig. 5, (*1*). [Fig. 2, Taf. XVII.]

2. Um dieses sammelt sich feinwabiges Plasma an Textfig. 5, (*2*). [Fig. 4, Taf. XVII.]

3. Das Centrum dieses verdichteten Plasmas wird kompakter und grenzt sich als erstes centroplasmatisches Verdichtungscentrum (= Centrosom) von dem peripher liegenden dichten Plasma ab Textfig. 5, (*3*). [Fig. 7, Taf. XVII.]

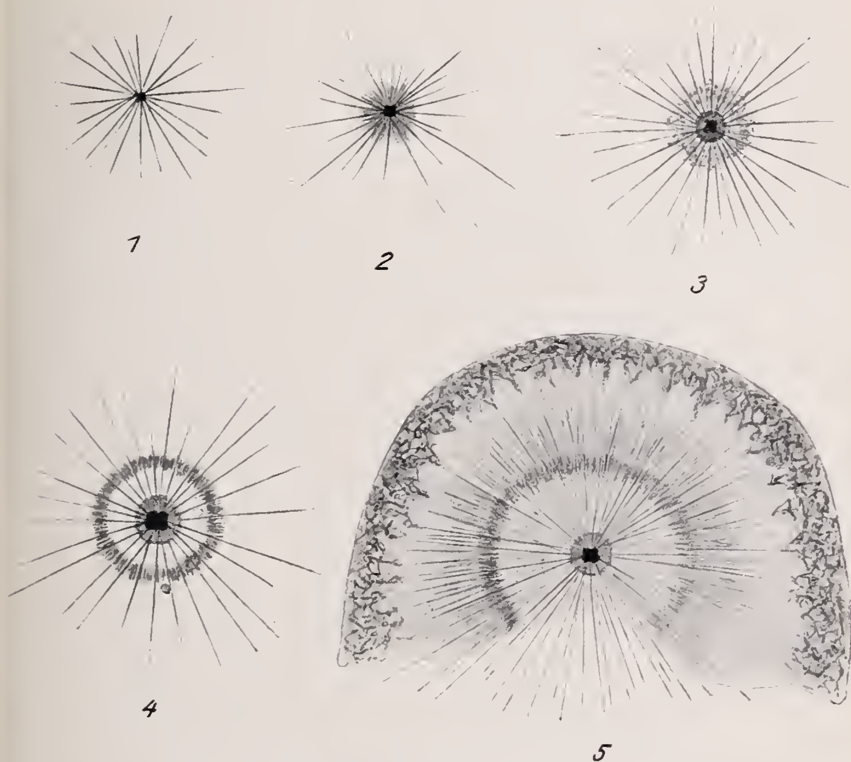
4. Jetzt bildet sich zwischen dem ersten Centroplasma (= Centrosom) und der peripheren Plasmaverdichtung eine helle strahlige Zone, die ich wegen ihrer relativen Plasmaarmut als erste centroplasmatische Erschöpfungszone bezeichnen möchte Textfig. 5, (*4*). [Fig. 8, 9, dann Fig. 5, 6, Taf. XVI, und Fig. 11, Taf. XVII.]

Hierbei wird das periphere verdichtete Plasma als zweite centroplasmatische Verdichtungszone von der ersten (= Centrosoma) getrennt.

5. Indem sich nun die mittleren Partien des ganzen Eiplasmas auf diese zweite Verdichtungszone konzentrieren, entsteht zwischen letzterer und der plasmatischen Rindenschicht des Eies eine zweite Erschöpfungszone Textfig. 5, (*5*). [Fig. 8, Taf. XVI.]

Diese komplizierten Sphärenstrukturen gleichen — abgesehen von den oben erwähnten Größenschwankungen des Centriols selbst — bis ins einzelne den von LAMS (10) bei *Arion* beschriebenen Vorgängen. Die Schilderung von LAMS (10) auf Seite 62—63 seiner Arbeit, sowie sein

Textfig. 5.



Schema der Centroplasmenentwicklung der ersten Richtungsspindel.

Schema (S. 60, Fig. 1—4) könnten ebensogut auch für die erste *Piscicola*-Richtungsspindel Geltung haben.

Schon LAMS hat auf die große Übereinstimmung unsrer Befunde mit den grundlegenden Anschauungen von VEJDOVSKY und MRAZEK genügend hingewiesen; er vergleicht (S. 63) seine Richtungsspindelstadien mit der Fig. 51, Taf. XXIII, bei VEJDOVSKY-MRAZEK (03), die gleichfalls ein periplasmatisches System von fünf konzentrischen Schichten — wie bei *Arion* und *Piscicola* — beschreiben. Unsere Angaben bilden eine Ergänzung der Beobachtungen der böhmischen Autoren, die ja nach ihrer eignen Angabe nur fragmentarische Bilder der Richtungsspindeln

erhalten konnten. Mit ihnen stimmen wir darin überein, daß die Centriole allein die perpetuierenden Bewegungsorganelle sind; daß das »Centrosom« nur eine vorübergehende plasmatische Bildung ist wie die übrigen centroplasmatischen Zonen, die jedenfalls auf intermittierende Substanzströme nach dem Centriol hin zurückzuführen sind.

Die Centralspindel

macht während ihrer Ausbildung ähnliche Schwankungen durch wie die Sphärenstrahlung. Kurz vor der Auflösung der Kernmembran bemerkt man innerhalb des Kernes vereinzelte Verbindungsstrahlen zwischen den beiden Centriolen (Fig. 6, Taf. XVI). Gleichzeitig werden die Chromosome (unter dem Einfluß der Centriole?) in die Mitte des Kernes konzentriert, wo die Verbindungsfasern mit ihnen in Kontakt treten. (Dieser konzentrierende Einfluß der Centriole scheint sich auch in den Stadien der Fig. 5, Taf. XVI, an den beiden Polen mit ihren zahlreichen Chromosomen bemerkbar zu machen.) Diese erste Anlage der Centralspindel wird während der Auflösung der Kernmembran zurückgebildet, so daß sich später zwischen den genäherten Centriolen keine Verbindungsfasern mehr finden (Fig. 1*a*—4, Taf. XVII). Hierauf entsteht die definitive Centralspindel de novo, ohne daß man bei ihrer Entstehung eine unmittelbare Beteiligung des unterdessen im Plasma verteilten Kerninhaltes nachweisen könnte.

Rücken die Centriole auseinander, und sind bereits die komplizierten Centroplasmen gebildet, so legen sich auch die Centralspindelfasern zuerst undeutlich (Fig. 7, Taf. XVI, und Fig. 5, Taf. XVII) an, bis sie schließlich zu einer äußerst scharf begrenzten Spindel von nur wenigen (scheinbar Zug!-) Fasern konzentriert sind (Fig. 6, 11 u. 12, Taf. XVII). Diese häufig S-förmig (Fig. 12, Taf. XVII) gebogene Centralspindel scheint — wie ja oft beschrieben — völlig unabhängig von den beiden Centriolen zu sein. Man trifft sie häufig überhaupt nicht mit den Centriolen oder mit deren Sphärenplasmen in Verbindung (Fig. 14, Taf. XVII). Häufig liegt sie sogar exzentrisch oder schräg zu den beiden Strahlungscentren (Fig. 13: Verbindungsfasern stark gefärbt), so daß ihre Fasern gar nicht nach den Centriolen hin konvergieren.

Die Mantelfasern

sind sehr beträchtlich ausgebildet (Fig. 9, Taf. XVI); die der beiden Gegenseiten überschneiden sich häufig. Die centroplasmatischen Verdichtungszonen sind oft an der Seite der Mantelfasern nicht oder nur

schwach ausgebildet (Fig. 7 u. 8, Taf. XVI; Fig. 9, Taf. XVII), so daß es den Anschein hat, als ob ihre Substanz beim Aufbau der Mantelfasern eventuell auch der Verbindungsfasern aufgebraucht wird.

Die Chromosome.

In den jungen Oocytenkernen ist ein Synapsis- (einseitig kontrahierter Chromosomenkomplex) und ein Bukettstadium nachzuweisen. Einzelheiten wie der Konjugationsmodus und die Zahl der Chromosome sind natürlich in den wenige μ großen Kernen nicht wahrzunehmen. Nach dem Bukett verteilen sich die — wie es scheint — tetradenförmigen Chromosome gleichmäßig im Kernreticulum (Fig. 10, 11, 14 u. 15, Taf. XIII), um sich bei weiterem Kernwachstum in ein gleichmäßiges Reticulum aufzulösen (Fig. 1, Taf. XVIII). Durch Segmentierung entstehen aus diesem Reticulum Kreuz- und Achterfiguren (Fig. 2, Taf. XVIII), die sich mehr und mehr kontrahieren (Fig. 3, Taf. XVIII) und schließlich 16 Kreuzchen bilden (Fig. 5—7, Taf. XVIII). Bei dieser Kontraktion schmilzt Chromatin in Gestalt kleinster Nucleolen ab. Über die Art und Weise der Pseudoreduktion können wir, wie gesagt, keine Angaben machen.

Wenn wir die Chromosomenfrage hier überhaupt angeschnitten haben, so geschah es nur, um zu zeigen, daß die Substanz unsrer 16 Vierergruppen während des Eiwachstums immer neben dem (meist in Einzahl vorhandenen) Nucleolus existiert. Sehr häufig findet man nämlich im Kern bei bester Fixierung und Färbung (auch mit E.-H.!) keine chromosomale Substanz (Fig. 2*a*, 3, 3*a*, 5*a*, *b*, *d* u. 7, Taf. XIV). Es könnte deshalb der Verdacht entstehen, daß — ähnlich wie dies bei *Polystomum* und *Asterias* früher angegeben worden ist — auch bei *Piscicola* die Chromosome aus dem Nucleolus entstehen. Wie sich aber durch die Beobachtungen von Halkin (11), Jordan (09) und Buchner (11) die Unrichtigkeit dieser Angaben herausgestellt hat, so müssen auch wir bei *Piscicola* betonen, daß die Chromosome immer neben dem Nucleolus vorhanden sind, wenn sie auch manchmal nur schwer darstellbar sind.

Abgesehen von dem morphologischen Nachweis spricht für diese Angabe noch die Intimstruktur des Nucleolus, der, genau wie die zahlreichen Randnucleolen des Amphibienkeimbläschens (Jörgensen 10) vom ersten Moment seines Nachweises an eine feinere (Fig. 12, 15 und 8, 9, Taf. XVIII) und schließlich immer gröbere vacuolige Beschaffenheit (Fig. 10, 11, Taf. XVIII) aufweist.

Ferner sind die Chromosome während des Eiwachstums durch ihre oxychromatische Reaktion gegenüber dem stark basichromatischen Nu-

cleolus ausgezeichnet. So zeigt Fig. 1—10, Taf. XV den — mit Safranin — rot gefärbten Nucleolus, während die Chromosome das Lichtgrün angenommen haben und so in dem Kernsaft bei dieser Reaktion überhaupt nicht nachweisbar sind.

Hier noch ein Wort über den Nucleolus. Sein Wachstum ist dem Kernwachstum proportional (siehe die Eier der Fig. 10—18, Taf. XIII). Meist ist er nur in Einzahl vorhanden. Oft findet man dagegen auch zwei (Fig. 12, Taf. XVIII) oder viele (Fig. 15, Taf. XVIII), die die typischen Vacuolen zeigen. Schließlich können sie auch durch einheitliche oder vielfache globulitische massive Komplexe ersetzt sein (Fig. 13 u. 14, Taf. XVIII).

Das *Piscicola*-Keimbläschen zeigt uns also sehr schön (Fig. 12—15, Taf. XVIII), wie aus einem mononucleären Ei durch erst mehr zufälligen, dann aber gesetzmäßig fixierten Zerfall des einen Nucleolus komplizierte polynucleoläre Zustände entstehen können, wie wir sie in unsrer ersten Arbeit (Kapitel 4) beschrieben haben.

Wie erwähnt, finden sich im reifen Keimbläschen 16 Tetraden, die in den Fig. 6 u. 7, Taf. XVIII, und Fig. 6, Taf. XVI, dargestellt sind. In der Richtungsspindel sind sie bei Seitenansicht in jungen Stadien (Fig. 3, Taf. XVII), bei Polansicht in allen Stadien (Fig. 15 u. 16, Taf. XVII) zu zählen. Fig. 16, Taf. XVII, stellt eine frühere, Fig. 15, Taf. XVII, eine ältere Äquatorialplatte dar, in der die Chromosome bereits eng beieinanderliegen, so daß sie in Seitenansicht auf diesem Stadium überhaupt nicht zu zählen sind (Fig. 5, 6, 11, 12, 14, Taf. XVII). Auf diesem Stadium der ersten Richtungsspindel werden die Eier abgelegt. — Die Normalzahl bei *Piscicola* beträgt demnach — bei der pseudoreduzierten Zahl 16 der ersten Richtungsspindel — 32.

Literaturverzeichnis.

Buchner, P. (1911.) Die Reifung des Seesterneies bei experimenteller Parthenogenese. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Bütschli, O. (1876.) Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge des Eizelle usw. Abh. Senk. Ges. Frankfurt Bd. X.

Cholodkowsky, N. (1892.) Zur Kenntnis der männlichen Geschlechtsorgane der Dipteren. Zool. Anz. Bd. XV.

—— (1894.) Zur Frage über die Anfangsstadien der Spermatogenese bei den Insekten. Zool. Anz. Bd. XVII.

Debaisieux, P. (1909.) Les débuts de l'ovogénèse dans le Dytiscus marginalis. La cellule. T. XXV.

DONS. (1910.) Beitrag zur Kenntnis der Entwicklung des Eies von Tomopteris. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

ERHARD, H. (1910.) Studien über »Trophospongien«. Festschr. R. HERTWIG. Bd. I. Fischer, Jena.

GIARDINA, A. (1901.) Origine dell'oocite e delle cellule nutrici nel Dytiscus. Internation. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XVIII.

GOLDSCHMIDT, R. (1904.) Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXI.

—— (1905.) Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung von Zoogonus mirus. Ebenda.

—— (1909.) Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris, nebst Bemerkungen über den Chromidialapparat. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

GRÜNBERG, K. (1903.) Untersuchungen über die Keim- und Nährzellen in den Hoden und Ovarien der Lepidopteren. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIV.

GÜNTHERT, TH. (1910.) Die Eibildung d. Dytisciden. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXX.

GURWITSCH, A. (1907.) Morphologie und Biologie der Zelle. Jena.

HERTWIG, O. u. R. (1887.) Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang tierischer Eier unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jen. Zeitschr. Bd. XX.

HINDLE, ED. (1910.) A cytological Study of Artifical Parthenogenesis in Strongylocentrotus purpuratus. Arch. f. Entwickl.-Mech. Bd. XXXI.

JÖRGENSEN, M. (1908.) Untersuchungen über die Eibildung bei Nephelis. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

—— (1910.) Beiträge zur Kenntnis der Eibildung usw. bei Schwämmen (Sykonen). Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

—— (1910.) Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von Proteus. Festschr. R. HERTWIG. Bd. I.

KORSCHELT, E. (1895.) Über Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei Ophryotrocha puerilis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LX.

KOSTANECKI, K. v. (1898.) Die Befruchtung des Eies von Myzostoma glabrum. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LI.

KUSCHAKEWITSCH, S. (1910.) Die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von Rana esculenta. Festschr. R. HERTWIG. Bd. II. Fischer, Jena.

KÜHN, A. (1908.) Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Chladoceren Daphnia und Polyphemus. Arch. f. Zellforsch. Bd. I.

LAMS, H. (1910.) Recherches sur l'œuf d'Arion empiricorum. Mémoires in 4° publiés par la Classe d. Sciences de l'Académie Royale de Belgique. T. II.

LEYDIG, FR. (1888.) Beiträge zur Kenntnis des tierischen Eies im unbefruchteten Zustand. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. III.

LIVANOW, N. (1906.) Acanthobdella peledina. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXII.

LUDWIG, H. (1874.) Die Eibildung im Tierreich. Arb. a. d. zool. Inst. Würzburg. Bd. I.

MATTHEWS, A. P. (1898.) A Contribution to the Chemistry of cytological Staining. Amer. Journ. Phys. I.

MONTGOMERY, TH. H. (1899.) Comparative Cytological Studies, with especial Regard to the Morphology of the Nucleolus. Journ. of. Morph. Vol. XV.

MOROFF, TH. (1909.) Oogenetische Studien I. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

OBST, P. (1899.) Untersuchungen über das Verhalten der Nucleolarsubstanz bei der Eibildung einiger Mollusken u. Arachnoiden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXVI.

Popoff, M. (1906.) Zur Frage der Homologisierung des Binnennetzes der Ganglienzellen mit den Chromidien (= Mitochondria) der Geschlechtszellen. Anat. Anz. Bd. XXIX.

—— (1907.) Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

—— (1910.) Ein Beitrag zur Chromidialfrage. Untersuchungen an Musciden. Festschrift f. R. Hertwig. Bd. I. Fischer, Jena.

Schaxel, J. (1909.) Die Morphologie des Eiwachstums und der Follikelbildungen bei Ascidien. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

—— (1910.) Die Eibildung der Meduse Pelagia usw. Festschr. f. R. Hertwig. Bd. I. Fischer, Jena.

—— (1910.) Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung usw. der Echinodermen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV.

Schleip, W. (1909.) Vergleichende Untersuchungen der Eireifung bei parthenogenetisch und bei geschlechtlich sich fortpflanzenden Ostracoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

Spengel, J. W. (1879.) Beiträge zur Kenntnis der Gephyseen. I. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. I.

Toyama, K. (1894.) On the spermatogenesis of the silk worm. College of Agriculture Bull. Vol. II. Tokio.

v. la Valette St. George, A. (1897.) Zur Samen- und Eibildung beim Seidenspinner. Arch. f. mikr. Anat. Bd. L.

Vejdovsky und Mrazek. (1903.) Umbildung des Cytoplasmas während der Befruchtung u. Zellteilung. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXII.

Verson, E. (1889.) La spermatogenesi nel Bombyx mori. Padova.

—— (1894.) Zur Spermatogenesis bei der Seidenraupe. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LVIII.

Tafelerklärung.

Fixierung: Sublimat. Alle Figuren auf Objekttischhöhe gezeichnet.

Tafel XIII.

Färbung: Delafield und E.-H.

Fig. 1. Keimlager, das sich aus Oogonien (*oog*) und Zwischenzellen (*zz*) zusammensetzt. Rechts: Abschnürung von Oogonien + Zwischenzellen. Diese Komplexe wachsen später zu Nährkammern heran. Vergrößerung 1080×.

Fig. 1 *a*. Oogonienmitose mit Centriolen. Vergrößerung 1500×.

Fig. 2—5. Entwicklungsstadien der Nährkammer mit vereinzelten Oogonienmitosen. Zwischen die Oogonien wandert ein Kern der Zwischenzellen, der mächtig heranwächst. Die andern Zwischenzellen bilden den die Nährkammer umhüllenden Follikel. Vergrößerung 1500×.

Fig. 6. Vermehrungsperiode der Oogonien beendet; Synapsisstadium in den jungen Oocyten (*S*).

I. Kompakter Bau der Nährkammer (Fig. 7, 8 u. 14).

Fig. 7. Oocyten mit fädig-körnigem Kernreticulum. Zwischenzellkern noch funktionstüchtig. Vergrößerung 1500×.

Fig. 8 u. 14. Ausgebildete Nährkammern. Die definitive Oocyte durch ihre Größe gekennzeichnet. Der Zwischenzellkern degeneriert.

II. Blastulaartiger Bau der Nährkammer mit centraler »Furchungshöhle«. (Fig. 9—13.)

Fig. 9. Oocyten auf dem Bukettstadium (*B*). Erste Anlage der Centralhöhle. Vergrößerung 1500×.

Fig. 10. Definitive Eizelle bereits kenntlich. Zwischenzellkern noch normal. Vergrößerung 1500×.

Fig. 11. Anschnitt einer Nährkammer. Centralhöhle verdeckt. Eizelle angelegt. Gleichzeitige Degeneration des Zwischenzellkerns. Vergrößerung 1080×.

Fig. 12 u. 13. Weitere Entwicklung des Reifeies und der Centralhöhle. Vergrößerung 1080×.

III. Nährkammern mit zwei definitiven Eiern.

Fig. 15. Zwei eben angelegte definitive Eizellen. Vergrößerung 1080×.

Fig. 16. Neben der großen beginnt sich eine kleinere Oocyte zum Reifei zu entwickeln. Die Kerne beider sind gleichgroß. Vergrößerung 700×.

Fig. 17 u. 18. Weitere Entwicklung der zweieiigen Nährkammern. Vergrößerung 700×.

Tafel XIV.

Fixierung: Sublimat. Färbung: E.-H. Vergrößerung 1080×.

Fig. 1. Nährkammer mit jugendlicher Eizelle, die um den Kern verdichtetes »Originalplasma« aufweist.

I. Lamellöse Niederschlagsmembranen (Fig. 2—9).

a) Jugendliche Eier (Fig. 2—4).

Fig. 2. Zusammenhängende, kugelige Grenzmembran zwischen Original- und Nährplasma.

Fig. 2*a*. Nur teilweise ausgebildete Niederschlagsmembran.

Fig. 3. Lokale globulitische Aufrollungen dieser Membran.

Fig. 3*a*. Bandförmige, zum Teil aufgerollte Grenzmembran im optischen Querschnitt.

Fig. 3*b*. Membranöser »Gitterkorb« von der Oberfläche aus.

Fig. 4. Anastomosierendes konzentrisches Faserwerk um den Eikern.

b) Ältere Eier (Fig. 5—9).

Fig. 5. Im Plasma verteilte Bruchstücke der lamellösen Grenzmembran.

Fig. 5 *a*—*d*. Allmähliche Verlagerung dieser Bruchstücke an die Kernmembran; bis zur völligen Berührung (Fig. 5 *d*).

Fig. 6—8. Allmählich fortschreitende pseudopodienartige oder lappige Ausbreitung des Original- im Nährplasma.

Fig. 7 *a*. Dotter- oder nebenkernartige Bildung der Bruchstücke der Niederschlagsmembran.

Fig. 9. Auflösung des Original- im Nährplasma. Zurückbleibende Membranreste.

II. Schlierenbildung des Originalplasmas.

Fig. 10. Schlierenartige Durchsetzung des Nähr- vom Originalplasma.

III. Emulsionsartige Verteilung des Original- im Nährplasma.

Fig. 11 u. 12. Das tropfig ausgefällte Originalplasma in unmittelbarer Umgebung des Kernes. Optischer Querschnitt und Aufsicht.

Fig. 13. Abrücken der Plasmatropfen vom Kern. Auftreten einer zweiten lamellösen Niederschlagsmembran.

Fig. 14 u. 15. Allmähliche Verteilung der Originalplasmakugeln im ganzen Ei.

Tafel XV.

Fixierung: Sublimat. Färbung: Fig. 1—10 Safranin-Lichtgrün; Fig. 11—13 Delafield-Eosin; Fig. 14 Mallori. Vergrößerung 1080×.

Fig. 1. Junge Eizelle mit verdichtetem centralem Originalplasma.

Fig. 2. Intensiv chromatisch gefärbte, zusammenhängende Niederschlagsmembran. Das Originalplasma hat auch hier einen andern Farbenton als das Nährplasma (siehe auch Fig. 3, 4, 6, 8, 9 und 12 dieser Tafel).

Fig. 3. Fingerförmige Pseudopodienbildung des Original- im Nährplasma. Grenzmembran intakt.

Fig. 4. Diese eingerissen. Allmähliche Mischung beider Plasmaarten.

Fig. 5. Verlagerung der Membranreste dicht an den Kern; dort wegen ihrer chromatischen Färbung ausgetretenes Chromatin vortäuschend.

Fig. 6—8. Verschiedene gitterkörbchenartig, knäuel- und wickelförmige Bruchstücke der Niederschlagsmembranen.

Fig. 9. Aufgerollte Membranreste von intensiver Färbung.

Fig. 10. Große Massen dieser membranösen Niederschlagsmembranen in unmittelbarer Berührung mit der Kernmembran, eine »Chromidien«-Haube bildend.

Tafel XVI.

Fixierung: Sublimat. Färbung: E.-H. Vergrößerung: Fig. 1—6 = 1080×; Fig. 7—9 = 1500×.

I. Prophase der ersten Reifeteilung.

Fig. 1. Junge Eizelle mit zwei opponieretn kleinen Centriolen.

Fig. 2. Beide Centriole nahe beieinander.

Fig. 3. Die opponierten Centriolen sind gewachsen.

Fig. 4. Und haben eine beträchtliche Strahlung ausgebildet. Im Plasma Reste der Niederschlagsmembranen.

Fig. 5. Die tetradenförmigen Centriole rücken vom Kern ab. Ihre Strahlung erstreckt sich bis zur Zelloberfläche. Im Plasma große lamellöse und strangartige »längsgespaltene« Reste der Grenzmembranen.

Fig. 6. Beginn der Auflösung der Kernmembran. Die Chromosome innerhalb des Kernes werden von den Centriolen konzentriert. Das Plasma weist reichliche kugelige Originalplasmareste auf (Emulsionstypus).

II. Ausbildung der ersten Richtungsspindel.

Fig. 7. Eben angelegte Reifespindel. Tetradenförmige Centriole enorm angeschwollen. Zwei centroplasmatische Verdichtungszonen ausgebildet. »Centrosom« nicht vorhanden.

Fig. 8. Das ganze Eiplasma in Sphärenplasmen geordnet. Um das Centriol die erste centroplasmatische Verdichtungszone (= »Centrosom«) sichtbar. Darauf folgt eine Erschöpfungs-, dann eine zweite Verdichtungszone. Die beiden Sphärenapparate werden von dem peripheren Plasma durch eine zweite Erschöpfungszone getrennt.

Fig. 9. Dasselbe wie in Fig. 8. Nur das »Centrosom« fehlt. »Zug«- und Mantelfasern gut ausgebildet. Im Plasma Reste der Niederschlagsmembranen.

Tafel XVII.

Fixierung: Sublimat. Färbung: E.-H. Vergrößerung 1500×.

Fig. 1. Soeben aufgelöster Kern. Nucleolus noch vorhanden. Centriolengröße reduziert. Centriolenstrahlung geschwunden.

Fig. 1*a*. Die nackten kleinen Centriole sind bis auf 10 μ aneinandergerückt.

Fig. 2 u. 3. Allmähliche Ausbildung einer Strahlung. In Fig. 3 16 Tetraden und der Nucleolus in Auflösung.

Fig. 4. Plasmaverdichtung um die Centriole.

Fig. 5. Wachstum des tetradenförmigen Centriols. Die Verdichtungszone rückt vom Centriol ab.

Fig. 6. Dieses wird von einer ersten, centroplasmatischen Verdichtungszone (= Centrosom) umgeben. Dann folgt eine Erschöpfungs-, dann wieder eine zweite Verdichtungszone.

Fig. 7. Differenzierung und Abgrenzung des »Centrosoms« in der centroplasmatischen Plasmaverdichtung.

Fig. 8 u. 9. »Centrosom« mit homogener und von unregelmäßiger Oberfläche.

Fig. 10. Tetradenform des Centriols. Erste centroplasmatische Verdichtungszone (= Centrosom) enorm ausgebildet — völlig homogen. Dann eine Erschöpfungs-, weiter nach außen zu eine breite zweite Verdichtungszone.

Fig. 11 u. 12. Definitive Ausbildung der ersten Richtungsspindel mit ihren Centroplasmen. (In Fig. 12 das »Centrosom« stark gefärbt.)

Fig. 13. Die Centralspindel konvergiert nicht nach den Spindelpolen und

Fig. 14 reicht nicht bis zum »Centrosom«.

Fig. 15 u. 16. Die 16 pseudoreduzierten Tetraden der ersten Reifeteilung in Polansicht.

Tafel XVIII.

I. Ausbildung der Reifetetraden. (Vergrößerung 1080×.) Fig. 1—7.

Fig. 1. Chromosomenreticulum.

Fig. 2 u. 3. Achter-, Kreuz-, usw. Figuren der pseudoreduzierten Cromosome.

Fig. 4 u. 5. Konzentration dieser Figuren zu kleinen Kreuzchen und Abschmelzen von Chromatintröpfchen von den Chromosomen.

Fig. 6 u. 7. Ausbildung der definitiven, pseudoreduzierten 16 Tetraden.

II. Nucleolen (Fig. 8—15).

Fig. 8—11. Wachstum der Nucleolen und ihrer Vacuolen (Vergrößerung 2250×).

Fig. 12. Zwei Nucleolen in einem Kern. (Vergrößerung 1080×.)

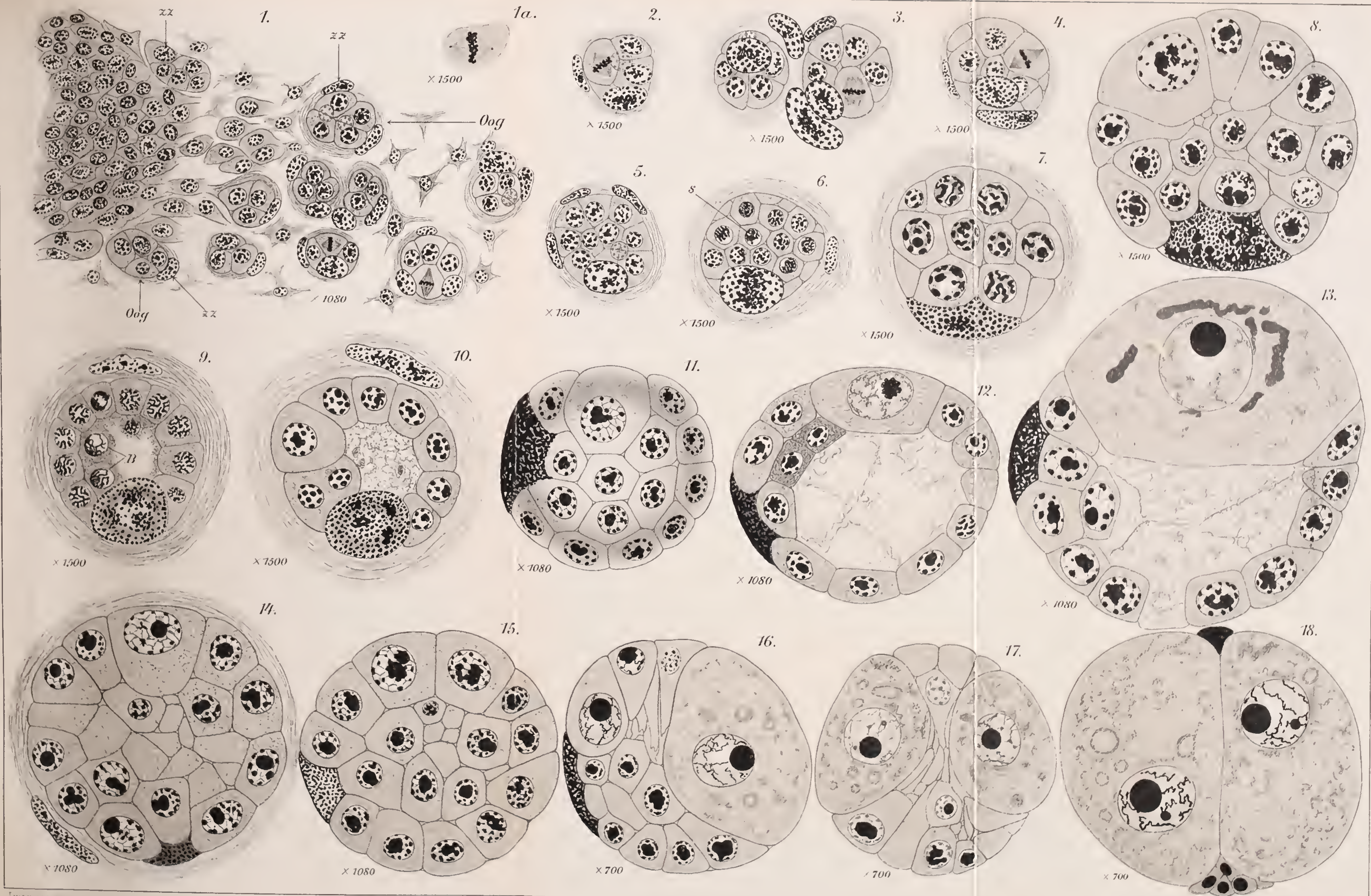
Fig. 13. Globulitische Ersatznucleolarsubstanz. (Vergrößerung 1080×.)

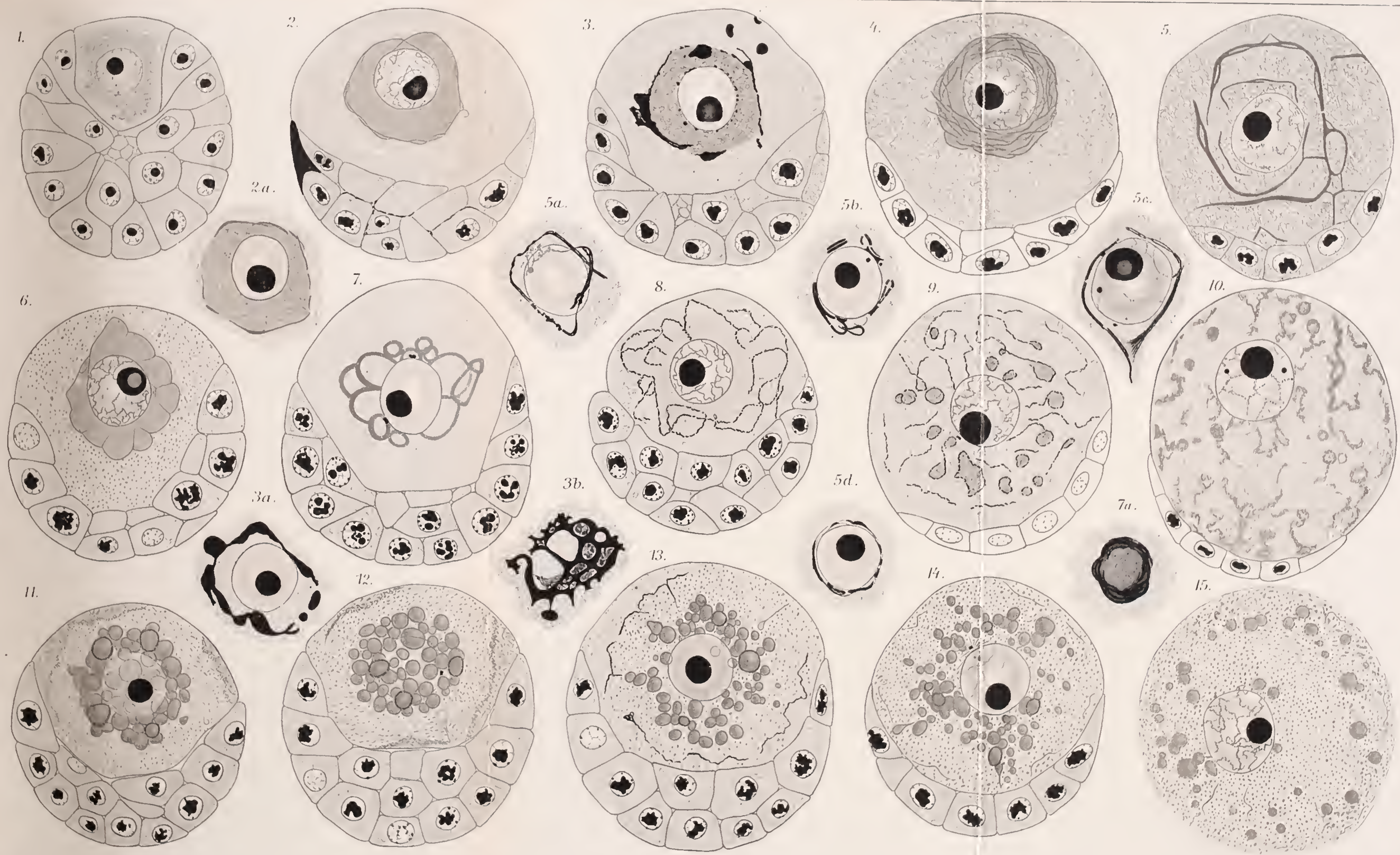
Fig. 14 u. 15. Zahlreiche kleine Nucleolen. (Vergrößerung 1080×.)

Fig. 16. Zentrierung der lamellösen Reste von Niederschlagsmembranen durch das Centriol. (Vergrößerung 1080×.)

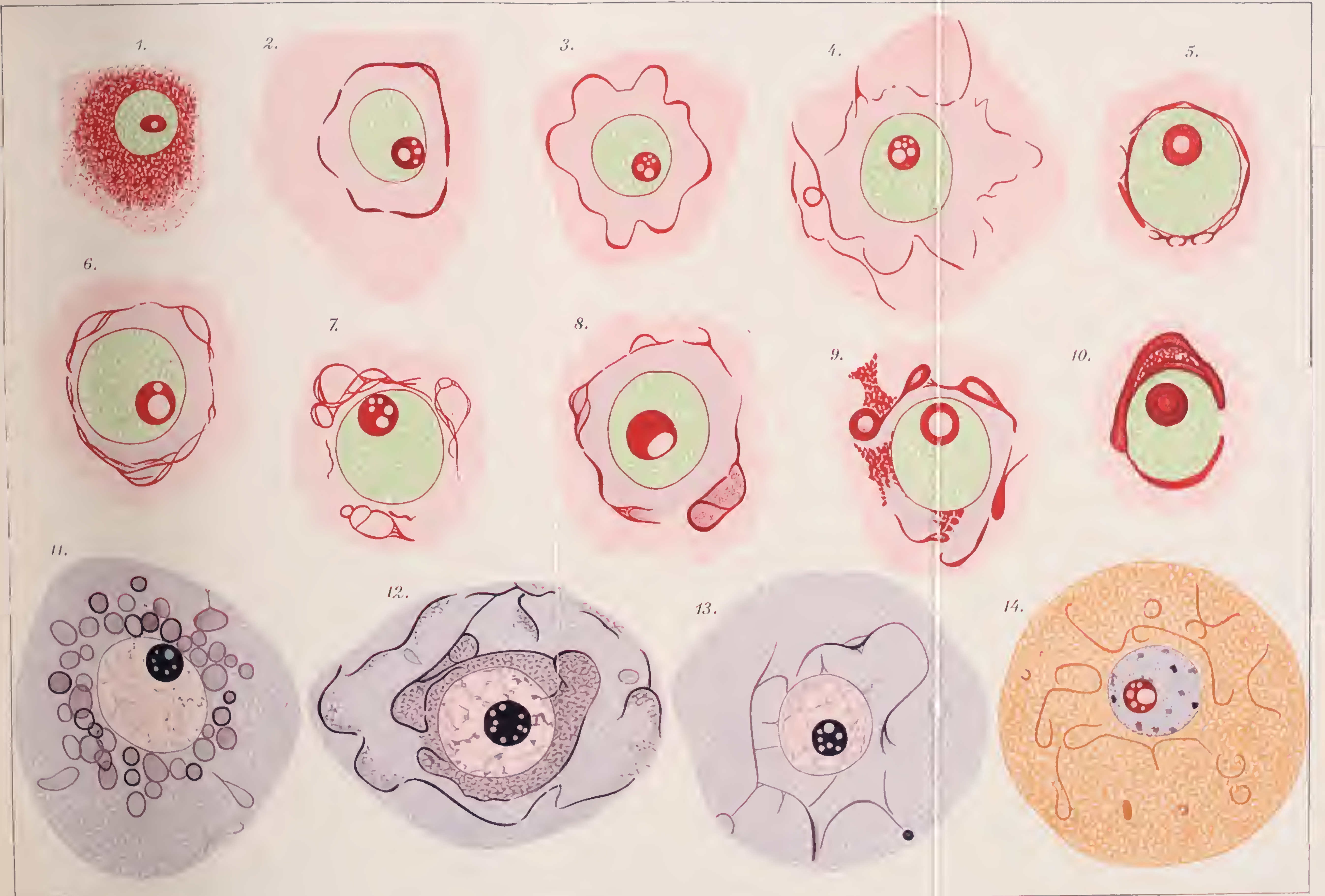
Fig. 17. Degenerierte Nährkammer. Nur der große Zwischenzellkern noch normal. (Vergrößerung 700×.)



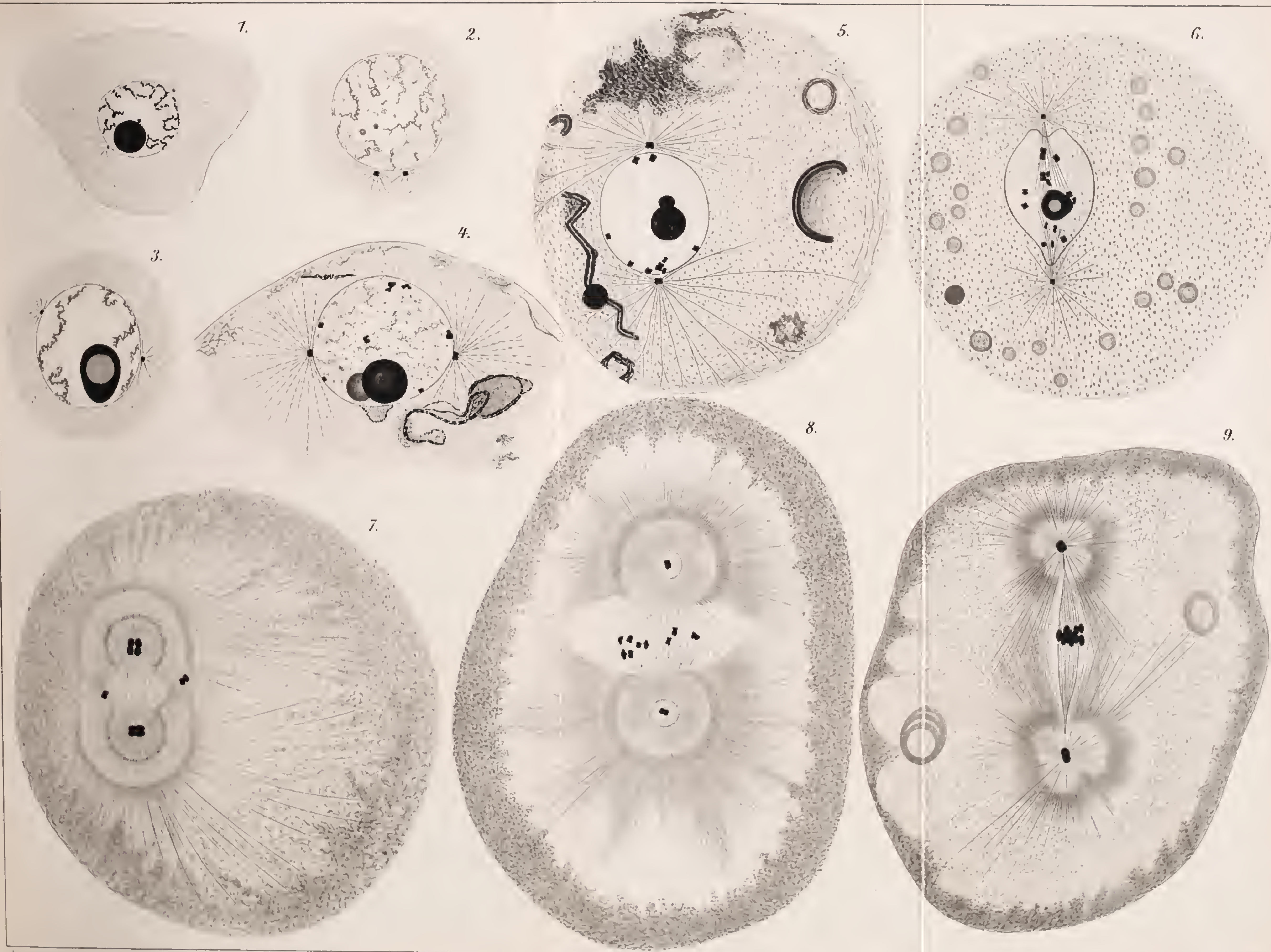

1.
1a.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
zz
Oog
B
s
× 1500
× 1080
× 700



gensen gez.
Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig
Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig



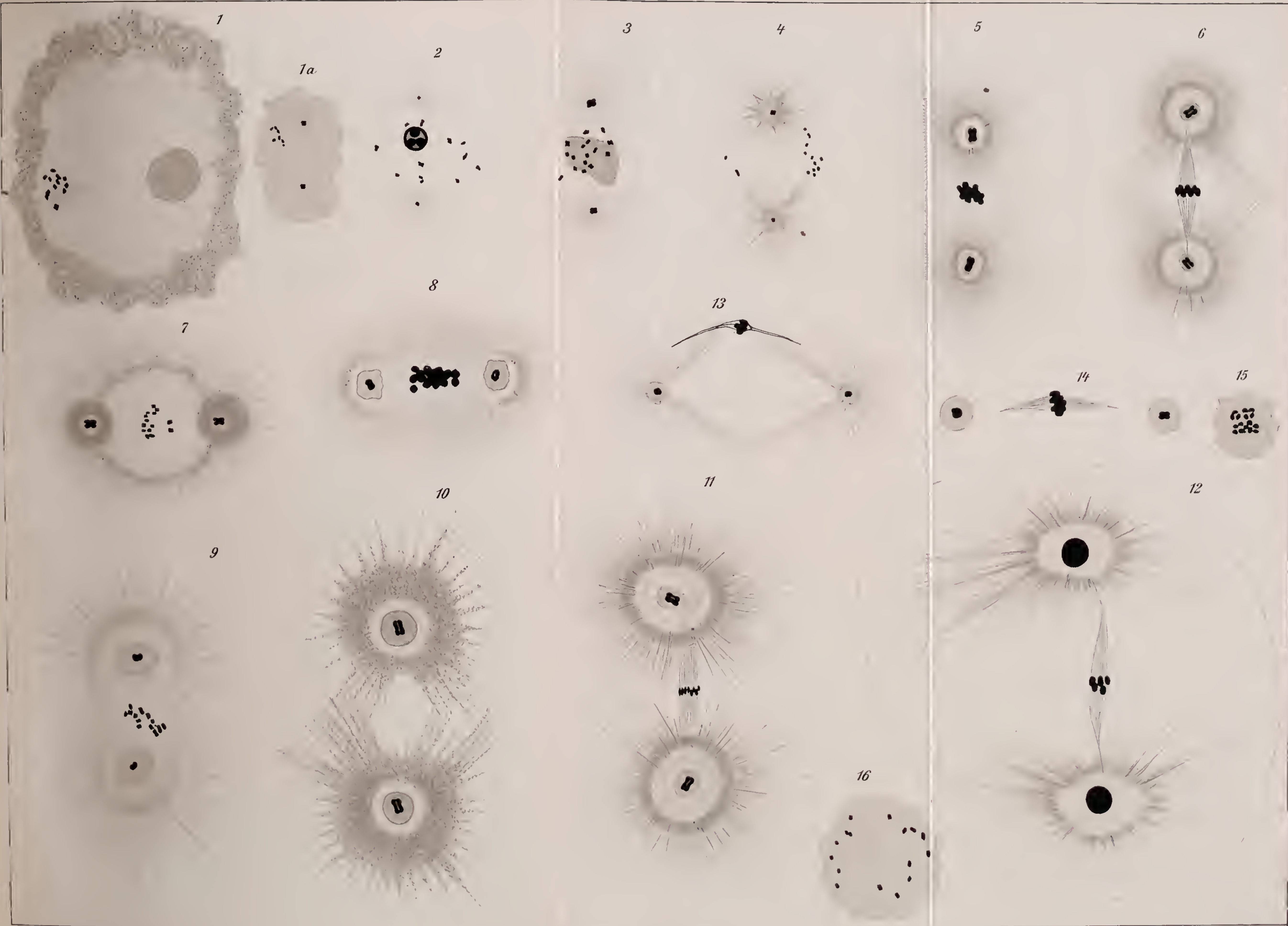
Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig.



Jørgensen gez.

Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig.

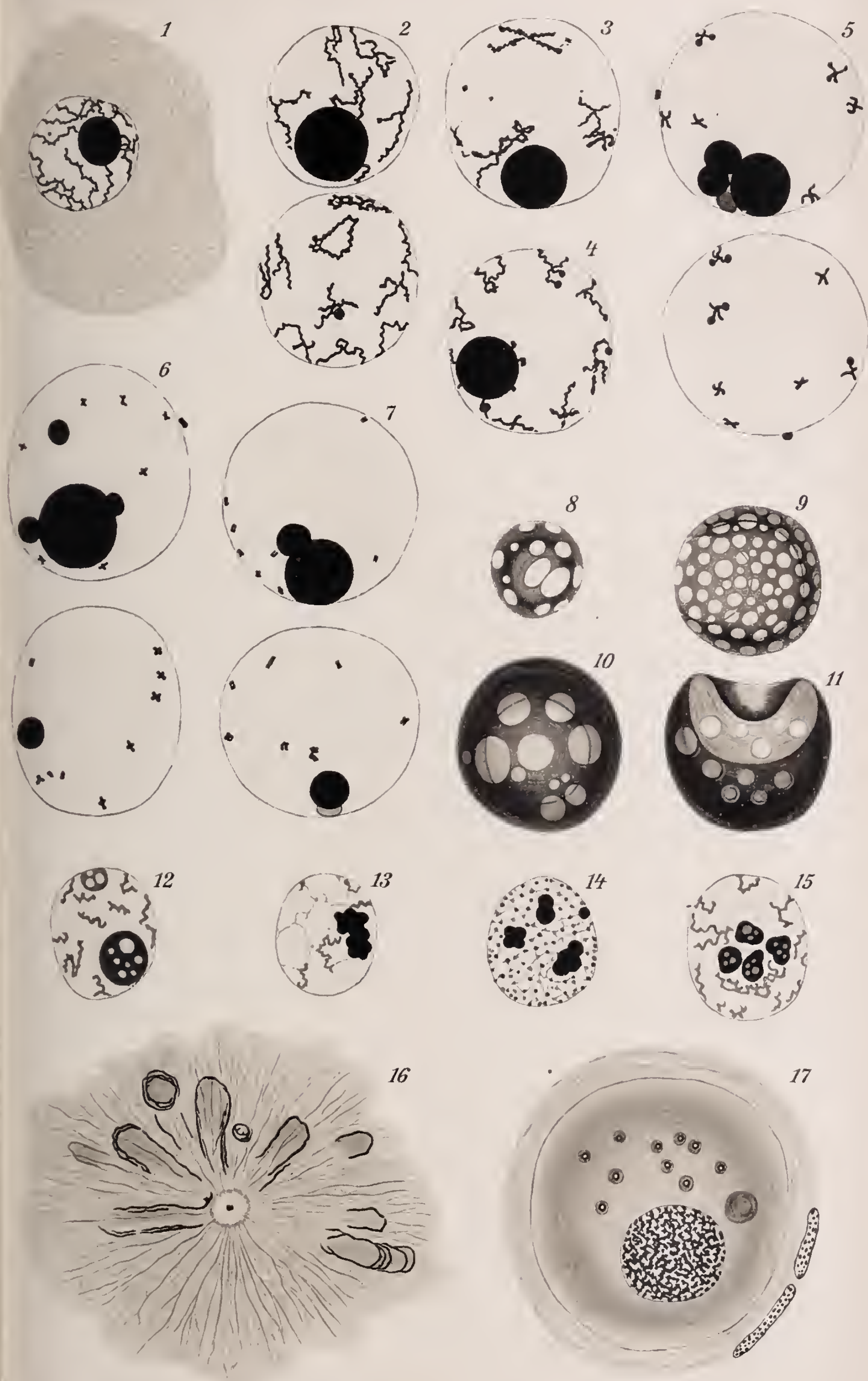
Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig



Jorgensen gez.

Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig

Lith. Anst. v. E. A. Funke Leipzig


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17

Zellenstudien. III.

Beitrag zur Lehre vom Chromidialapparat nach Untersuchungen an Drüsenzellen von Piscicola.

Von

Max Jörgensen †.

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Mit 11 Textfiguren und Tafel XIX—XX.

In der Geschichte der Zellenlehre sind in Hinsicht auf die Bewertung der einzelnen Zellkomponenten mehrere Epochen zu unterscheiden. Die Untersuchungen der älteren Forscher, vor allem die Max Schultzes, waren darauf gerichtet, das Protoplasma als Träger aller Lebenstätigkeit hinzustellen. Alle Lebensäußerungen der Zelle spielten sich im Protoplasma ab, und so konnte man mit dem scheinbar passiven Kern nichts weiter anfangen.

Diese Anschauung schlug bald in ihr Gegenteil um, als man erkannte, daß das Wesen der Befruchtung in der Vereinigung des väterlichen und mütterlichen Kernes (und der in ihnen lokalisierten Erbeinheiten) bestand, und man auf die komplizierten mitotischen Vorgänge aufmerksam wurde, die die Chromosome, die Träger der Erbsubstanzen in äquater Weise auf die Tochterzellen verteilten. Man glaubte jetzt, besonders in Rücksicht auf die Vererbungspotenzen des protoplasmafreien Spermatozoons, dem Kern die Alleinherrschaft im Leben der Zelle zuschreiben zu müssen; das Protoplasma sei nur das Feld seiner Tätigkeit.

In neuester Zeit wurde diese Ansicht noch gestützt durch morphologische Befunde, die uns mit dem Chromidialapparat bekannt machten, einer Zellstruktur, die besonders nahe Beziehungen zwischen Kern und Protoplasma auszudrücken schien.

Bei Protozoen hat R. HERTWIG (99, *Arcella*) das Chromidium als solches entdeckt; er hat dann besonders in seiner Arbeit über die physiologische Degeneration von *Actinosphaerium* (04) seine Anschauungen über dieses Zellorganell dahin präzisiert, daß er das Chromidium für eine Konsequenz der physiologischen Tätigkeit der Zelle hielt: lang und stark funktionierende Zellen zeigen ein übermäßiges Wachstum ihres Kernes; durch Chromatinabgabe (Chromidienbildung) wird die gestörte Kernplasmarelation, eine normalerweise gesetzmäßige Größe, wieder auf ihre Norm zurückgeführt.

In anderer, von dieser wohlbegründeten Auffassung abweichender Weise suchten SCHAUDINN (03) und GOLDSCHMIDT (04) den Chromidialapparat theoretisch zu verwerten. Besonders GOLDSCHMIDT glaubte, all die höchst verschiedenartigen plasmatischen Einschlüsse der Metazoenzelle (wie Nebenkern, Ergastoplasma, Dotterkern, Archoplasmaschleifen, Pseudochromosome, Centrophormien, Mitochondrien, Trophospongien, Apparato reticolare u. a.) unter einem einheitlichen Gesichtspunkt zusammenfassen zu können, indem er alle diese Gebilde — trotz ihrer gelegentlich erheblichen strukturellen Differenzen — für aus dem Kern ausgetretenes Chromatin, für Chromidien erklärte.

Hieran schloß sich die weitere Hypothese, daß jede tierische Zelle doppelkernig sei. Bei lebhaft funktionierenden Zellen (z. B. Drüsen und wachsenden Eizellen) sollte eine Trennung dieser beiden Kernarten stattfinden. Der somatische Kern wandere vom Kern hinaus in das Plasma und beeinflusse dort, als Chromidium, die jeweils specifische Tätigkeit des Protoplasmas; der propagatorische Kern bleibe bei den Metazoen auf den eigentlichen Zellkern beschränkt. Bei Protozoen (*Arcella* z. B.) verhalte es sich gerade umgekehrt.

Diese Hypothese ist, vorausgesetzt, daß sie sich bestätigt, eine gewichtige Stütze für die oben erwähnte Anschauung von dem Übergewicht des Kernes, der mittels seines Chromidiums alle somatischen und specifischen Leistungen des Protoplasmas beherrscht.

Alle Untersuchungen, die sich nun mit diesem Problem des Chromidialapparates beschäftigen, haben scharf zwei Punkte auseinanderzuhalten.

1. Die morphologischen Tatsachen.

Gibt es in der Tat im Plasma Gebilde, die man mit Sicherheit als »Chromidium« oder »Chromidialapparat«, d. h. als aus dem Kern ausgetretenes Chromatin diagnostizieren kann? Gibt es bei dieser Diagnose Fehlerquellen, wie groß sind diese, und wie sind sie zu vermeiden?

2. Die physiologischen Tatsachen.

Wenn nun wirklich eine Struktur als Chromidium gekennzeichnet ist, hat sie dann auch die oben postulierte Bedeutung im Zellgeschehen, d. h. ist sie wirklich als ein »trophischer Kern« im Plasma anzusehen, der jeweils den ganz specifischen Arbeitsleistungen der Zelle (wie Bildung von Secret- und Dottergranula, Bildung von Muskel-, Nervenfibrillen usw.) vorzustehen hat, — oder ist dem Chromidium diese Bedeutung abzusprechen, ist es nur eine Begleiterscheinung gewisser Zellzustände, wie das R. Hertwig angenommen hat.

In meinen bisherigen Arbeiten (10a u. b) habe ich mich nur mit dem zweiten Punkt und zwar nur bei Eizellen beschäftigt. Ich bin dort, besonders beim *Proteus*-Ei zu dem Resultat gekommen, daß zwar in seltenen Fällen (im Bukett gewisser Tiere) ein Chromatinaustritt nicht zu leugnen ist, daß aber dem Chromidialapparat nicht der oben postulierte Charakter eines trophischen Kernes zukommt.

Nach der Lehre vom Chromidialapparat ist das Riesenwachstum des Eies allein auf den trophischen Kern des im Eiplasma befindlichen Chromidiums zurückzuführen.

Es gibt nun in der Tat im Eiprotoplasma Substanzen, die sich mit Chromatinfarben färben; in einigen wenigen Fällen, z. B. *Proteus*, kann ein Teil von ihnen als direkt aus dem Kern ausgetretenes Chromatin identifiziert werden. In diesem Falle wurde aber nachgewiesen, daß das im Plasma suspendierte Chromatin keine Rolle beim Eiwachstum spielt, sondern fettig degeneriert.

In all den zahlreichen andern Fällen aber, wo chromatophile Substanzen im Eiplasma gefunden werden, sind diese kein aus dem Kern ausgetretenes Chromatin, sondern können alle möglichen Einschlüsse sein, die — sei es wegen ihrer physikalischen Dichte, sei es wegen ihres Gehaltes an beliebigen organischen Säuren (Mathews 98), sei es wegen ihres spontan auftretenden Gehaltes an Nucleinsäure, sich mit »Chromatin«farben färben.

In der wachsenden und deshalb stark funktionierenden Eizelle spielt daher der Chromidialapparat — wo er vorhanden ist — keine Rolle; in bei weitem den meisten Eiern gibt es aber überhaupt kein derartiges »Chromidium« (Jörgensen 10 b u. 12 a).

Da diese meine Befunde für die weitschauende und alle Lebenserscheinungen in so einfacher Weise erklärende Lehre vom Chromidialapparat — an Eizellen — nicht bestätigend ausgefallen waren, hielt ich es für meine Pflicht, mich an einem klassischen Objekt von der Richtigkeit der Chromidienlehre überzeugen zu müssen.

Den Hinweis auf ein derartiges, den Chromidienaustritt — wie es schien — wundervoll illustrierendes Objekt entnahm ich GOLDSCHMIDTS Arbeiten (04 u. 05), in denen des öfteren mit Nachdruck auf die MONTGOMERYschen Angaben über einen ganz extremen Austritt von Chromatin aus den Kernen der Drüsenzellen von *Piscicola* hingewiesen wird, und einem persönlichen Hinweis auf dieses Objekt.

Diese Angaben MONTGOMERYS über reichliche Chromidienbildung während der Drüsentätigkeit erschienen so wichtig, daß man sie ohne weiteres mit Eizellen in Dotterbildung vergleichen zu können glaubte.

Was mir demnach bei Eizellen nicht gelungen war, wollte ich nun an diesen Drüsenzellen nachprüfen, besonders noch deshalb, weil die Angaben und Bilder MONTGOMERYS in mehrere neuere Lehrbücher (O. HERTWIG: Allgemeine Biologie, 3. Aufl. 1909, S. 44; M. HEIDENHAIN: Plasma und Zelle, I. Abt. 1907, S. 190; K. C. SCHNEIDER: Vergleichende Histologie) übergegangen sind.

Leider wurden meine Erwartungen sehr enttäuscht; denn — ich will es gleich im voraus bemerken — die Nachprüfung der für cytologische Untersuchungen ganz hervorragend geeigneten *Piscicola*-Drüsen konnte die MONTGOMERYschen Angaben in keiner Hinsicht bestätigen. MONTGOMERY ist einem Irrtum zum Opfer gefallen. Er hat ein im Plasma spontan auftretendes chromatophiles Prosecret, meiner Ansicht nach, fälschlicherweise für aus dem Kern ausgetretenes und austretendes Chromatin (spez. Nucleolen) gehalten; ein Beobachtungsfehler, der mir bei der Größe und Klarheit des Objektes unbegreiflich ist.

Auf die dadurch bedingten theoretischen Ausfallserscheinungen werden wir in einem Schlußkapitel eingehen.

Wir wenden uns jetzt zu unserm Objekt selbst und besprechen zuerst unsre eignen Befunde.

Dann werden wir die ganz abweichenden Befunde MONTGOMERYS an der Hand seiner eignen Figuren schildern und seine Angaben einer sachlichen Kritik unterziehen.

Zum Schluß werden wir in einem theoretischen Kapitel auf die hier angeschnittene Frage nach dem Vorhandensein und der physiologischen Bedeutung des Chromidialapparates in der Metazoenzelle eingehen.

Material und Methoden.

Ermöglicht wurde die Arbeit durch die Liebenswürdigkeit von Frl. Dr. PLEHN, die mir persönlich mehrfach reichliches *Piscicola*-Material aus Teublitz (Oberpfalz) zukommen ließ. Es sei mir gestattet, auch an

dieser Stelle Frl. Dr. Plehn meinen herzlichsten Dank für ihre große, persönliche Mühe auszudrücken. — Das erste Material erhielt ich am 6. März zu Beginn, das weitere Material am 18. März und 7. April auf der Höhe der Laichzeit.

Von den zahlreichen angewandten Fixierungsmethoden lieferten Sublimat und seine Gemische die besten Resultate. Zum Zweck der physiologischen Untersuchung war auch Alkoholmaterial eingelegt worden. Gefärbt wurde mit mehreren basischsauren Farbgemischen. Unsre Tafeln wurden hergestellt nach Präparaten, die mit Safranin-Lichtgrün; Delafield-Eosin (Fig. 10—13, Taf. XIX); und Jodgrün-Fuchsin (nach Zimmermann; Fig. 17—21, Taf. XIX) gefärbt waren.

Morphologische Vorbemerkungen.

Die untersuchten Hautdrüsen von *Piscicola* liegen zwischen Körpermuskulatur und Darm in der Leibeshöhle (Textfig. 1 u. 2). Meist liegen sie unmittelbar dem Hautmuskelschlauch an. Montgomery (99) unterscheidet der Größe nach zwei Sorten:

1. Kleine Drüsenzellen an den Enden des Tieres und in seinen Saugnäpfen. Diese gleichen bis auf ihre geringe Größe

2. dem großen Drüsenzelltypus, der besonders reichlich in der vorderen und mittleren Körperregion ausgebildet ist.

Wie unser Gewährsmann, so habe auch ich nur den größeren Drüsenzellen meine Aufmerksamkeit gewidmet.

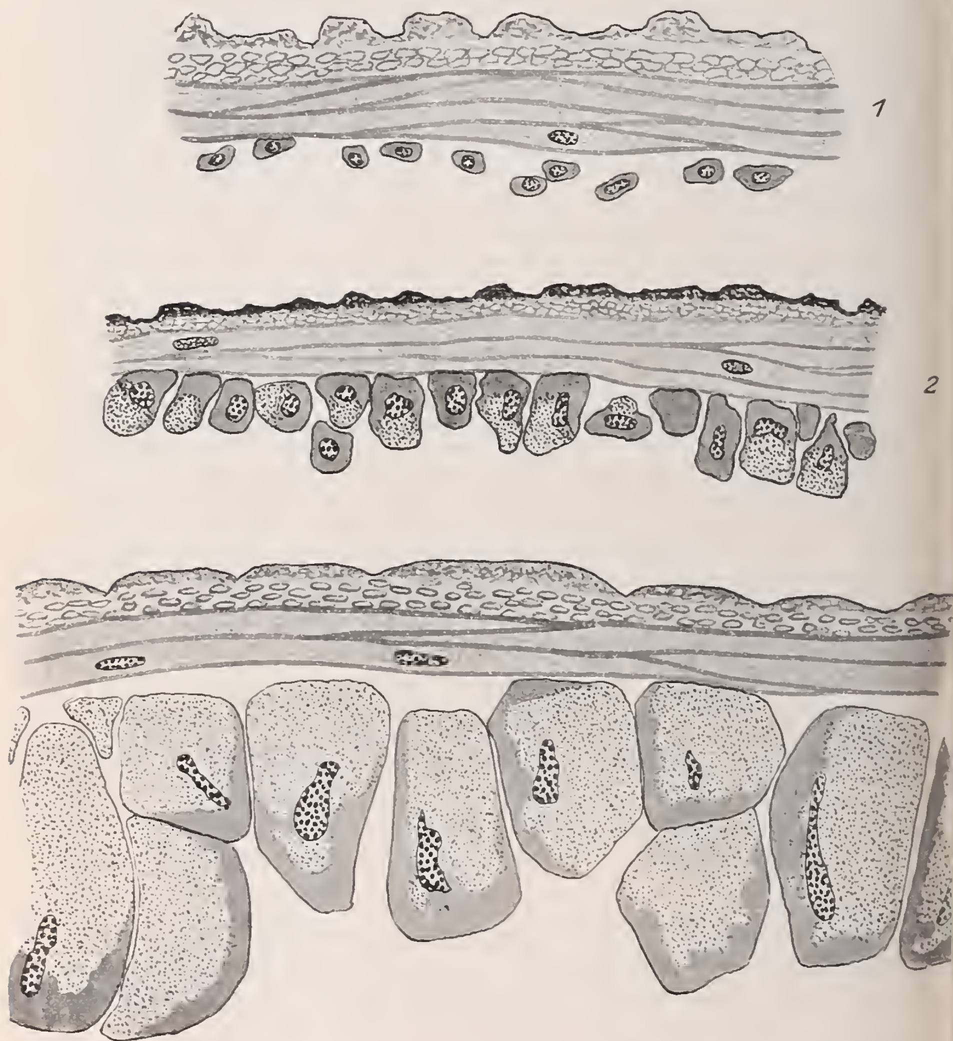
Diese Hautdrüsen von *Piscicola* sind einzellige Drüsen. Jede Drüse hat ihren eignen Ausführungsgang, der bis zu seiner Mündung zwischen den Epithelzellen selbständig bleibt (Textfig. 2). Eine Verschmelzung der Ausführungsgänge mehrerer Drüsenzellen wurde nicht beobachtet. Die Ausführungsgänge kann man als Fortsätze der Drüsenzellen auffassen.

Auf unsern Tafeln sind die Drüsen so orientiert, daß der nach dem Ausführungsgang zu gelegene Pol nach oben gerichtet ist. Der Verlauf der Ausführungsgänge ist nämlich auf Schnitten meistens gar nicht oder nur auf eine kurze Strecke zu sehen.

Die Mündungen der im vorderen und mittleren Körperteil befindlichen Hautdrüsen liegen in der Region der Geschlechtsöffnungen. Und zwar sollen nach der Angabe Montgomerys die Öffnungen der Ausführungsgänge gleich zahlreich an der dorsalen, lateralen und ventralen Seite des Wurmes sein.

Die vor den Geschlechtsöffnungen liegenden Drüsen senden ihre Ausführungsgänge nach hinten; die hinter den Geschlechtspori liegenden

Textfig. 1.



Die jeweils korrespondierenden, mittleren Teile des Hautmuskelschlauches mit den darunterliegenden Hautdrüsen. Zur Demonstration des riesigen Drüsenwachstums während der Ontogenese von *Piscicola*. *1.* Hautmuskelabschnitt des jüngsten. ungefähr 1 cm großen, *2.* eines mittelgroßen, *3.* eines großen ungefähr 5 cm langen Tieres. Vergr. etwa 125 ×.

Drüsen nach vorn zu. Dabei sollen die am meisten caudal gelegenen Drüsen (nach Montgomerys Angabe) Ausführgänge besitzen, die vier

Fünftel der ganzen Körperlänge, das wären einige Centimeter, betragen.

In ihrem Verlaufe vereinigen sich die Ausführungsgänge zu parallel geschichteten Bündeln, die auf der Höhe der Laichzeit einen beträchtlichen Durchmesser erreichen können. Während dieser Zeit sind sie prall mit Secretgranula gefüllt.

Textfig. 2.



Vergr. 330 ×.

Die in unsrer Textfig. 2 abgebildeten Ausführgänge sind relativ kurz, meistens gehen sie — wie erwähnt — durch mehrere Körpersegmente.

Wegen ihrer Mündung in der Nähe der Geschlechtsöffnungen und wegen ihrer maximalen Ausbildung während der Laichzeit, schließe ich mich der Vermutung Montgomerys an, daß diese Drüsen bei der Kokonbildung eine Rolle spielen und den Clitellardrüsen der Oligochäten vergleichbar sind[1]).

[Am 6. März hatten die Drüsen noch nicht ihre definitive Größe erreicht (Fig. 2, Taf. XIX).

Am 17. März waren die Drüsen auf der Höhe der Prosecretbildung (Fig. 3—10, Taf. XIX).

Am 7. April wiesen die Drüsen kaum noch Prosecret auf. Sie waren auf der Höhe der Laichzeit angekommen; die Drüsen funktionierten scheinbar maximal (Fig. 11, Taf. XIX).]

Es scheint mir, daß die Drüsen während der Laichzeit wochenlang

[1]) Da die Drüsengranula die Schleimreaktion nicht geben, scheinen sie wohl die zur Ernährung des Embryos dienenden Eiweißmassen zu liefern. Die innerhalb der Drüsenzellen befindlichen Secretgranula sind in Pepsin verdaulich (Fig. 13, Taf. XX) in Trypsin unverdaulich und enthalten Eisen (Listsche Reaktion).

funktionieren können. Dabei glaube ich nicht, daß wähernd dieser Zeit mehrere Involutions- mit mehreren Funktionsperioden in einer Drüse abwechseln.

Degenerierte Drüsen sah ich normalerweise selten. Deshalb ist wohl auch die Angabe MONTGOMERYS richtig, daß die Drüsen nach ihrer Funktionsperiode (Laichzeit) erhalten bleiben und in den weiteren Lebensjahren des Egels wieder funktionieren. Sie wären daher als merocrine Drüsen ((RANVIER) zu bezeichnen. — Die Drüsenzellen selbst machen während der Entwicklung des Tieres — und auch in jeder Funktionsperiode ein ganz enormes Wachstum durch. Von diesem gibt unsre Textfig. 1 (S. 166) ein ungefähres Bild.

Die jüngsten mir zur Verfügung stehenden Tiere waren ungefähr 1 cm lang. Sie wiesen die in Fig. 1, Taf. XIX, und Textfig. 1 (*1*) dargestellten kleinsten Zellen auf, die während des Wachstums der Tiere (auf 5—6 cm Körperlänge) die enorme Größe der Fig. 10, Taf. XIX, und Textfig. 1 (*3*) erreichten.

Diese Zellen sind so groß, daß sie auf Schnitten mit bloßem Auge zu sehen sind.

Nach diesen Vorbemerkungen gehen wir über zu der feineren

Cytologie der Drüsenzellen.

Die Kerne der jüngsten Drüsen weisen bereits einige chromatische Brocken auf, die MONTGOMERY als »Nucleolen« bezeichnet[1]), und die sich lebhaft während des Zellwachstums — wie? konnte nicht beobachtet werden — vermehren.

Das Plasma ist schon in den jüngsten Zellen leicht chromatisch färbbar (Fig. 1, Taf. XIX). Diese Affinität nimmt während des Zellwachstums noch zu, so daß schon mittelgroße Drüsen (Fig. 2, Taf. XIX) intensiv chromatisch erscheinen. Die Struktur des eigentlichen Plasmas ist scheinbar wabig; oft ist es radiär um den Kern orientiert (Fig. 6,

[1]) Kerne mit einem »Nucleolus«, wie sie MONTGOMERY am Anfang und am Ende seiner Entwicklungsreihe beschreibt, fand ich nicht. Es kann sich hier um lokale Differenzen handeln; es ist aber auch möglich, daß nur die kleinsten Tiere (von 6 mm, die mir nicht vorlagen) mononucleoläre Zustände aufweisen. Die primitivsten Nucleolenbilder fand ich in Hungerdrüsen. Dort war (Fig. 17 u. 18, Taf. XIX) der Kerninhalt bis auf drei Chromatinbrocken reduziert. Wegen der ganz schematischen Zeichnungen MONTGOMERYS ist es uns unmöglich festzustellen, ob ihm nicht Verwechslungen mit verschiedenen andern Zellarten, die sich zahlreich besonders im Vorderteil von *Piscicola* finden, und deren Bau und Funktion wir nicht studiert haben, untergelaufen sind.

Taf. XIX). Ich halte diese strahlige Beschaffenheit für eine Fixationsstrahlung. Während der Drüsenfunktion ist das Plasma völlig verdeckt. Sei es, daß die definitiven Drüsengranula seine Struktur verschleiern (Fig. 8 u. 10, 11—14, Taf. XIX), sei es, daß es dicht angefüllt ist mit einer Substanz, die sich stark mit Chromatinfarben (Boraxcarmin, Delafield, Safranin u. a.) tingiert.

Diese chromatophile Substanz ist — besonders in Zellen zu Beginn ihrer Funktion am Anfang der Laichzeit (18. März) — so dicht (Fig. 2 u. 3, Taf. XIX), daß sie fast homogen erscheint[1]). Wie die eigentliche Protoplasmastruktur, so ist auch diese fragliche Substanz oft leicht radiär angeordnet (Fig. 3; besser ist dies noch auf den späteren Stadien Fig. 7, 9, 15, Taf. XIX, und Fig. 8 u. 9, Taf. XX, zu sehen).

Der Vergleich der Drüsen in verschiedenen Funktionszuständen lehrt uns, daß diese chromatophile Substanz — in dem Maße, wie sich die Zelle mit Secretgranula anfüllt — abnimmt (Fig. 2—11, Taf. XIX), bis schließlich die ganze Zelle mit Secret vollgestopft ist (Fig. 11, Taf. XIX), oder nur noch einige Reste besagten chromatischen Ergastoplasmas an der Zellbasis liegen (Fig. 10, Taf. XIX). Wir gehen infolge dieser Reciprozität wohl nicht fehl, diese chromatophile Substanz für die Matrix des Drüsensecrets anzusehen. Auf Grund dieser Annahme bezeichne ich es als Prosecret.

Die ausgeruhten Drüsenzellen enthalten zu Beginn der Laichzeit außer dem dichten Prosecret nur wenige oxychromatische Granula (Fig. 2 und 3, Taf. XIX; mit Lichtgrün gefärbt). Setzt die Drüsentätigkeit ein, so bilden sich letztere zuerst in größerer Menge in der Nähe des Kernes (Fig. 3 u. 4, Taf. XIX), wo sie in Inseln beieinander liegen. Weiterhin geht die Secretbildung diffus in der ganzen Zelle vor sich (Fig. 5, Taf. XIX). Das gebildete Secret sammelt sich in der oberen — nach dem Ausführungsgang zu gelegenen — Region der Zelle (Fig. 8 u. 10, Taf. XIX).

Bei der Secretbildung wird das anfangs homogene Prosecret allmählich strangförmig; diese Prosecretstränge entstehen durch Substanzabschmelzung. Die abgeschmolzene Substanz wird beim Aufbau der Granula verbraucht; deshalb findet man zwischen den Prosecretbalken die dichtgedrängten Secretgranula (Fig. 3—5, 8 u. 10, Taf. XIX).

Am besten kann man die hierbei auftretende, eigenartig »angefressene« Struktur des Prosecretes zur Darstellung bringen, wenn man

[1]) Diese homogene Substanz hat auch Montgomery gesehen. Ganz richtig beschreibt er auch ihr Aufgehen in die Drüsengranula. Abbildungen dieses Ergastoplasmas und seiner Metamorphosen hat er nicht gegeben.

— wie in den Fig. 7 u. 9, Taf. XIX — die Secretgranula bei der Zeichnung fortläßt.

Es finden sich aber weiterhin auch Tiere, bei denen das Secret während dieser Zeit nur spärlich ausgebildet ist; sei es, daß es zum größten Teil schon entleert, sei es, daß es überhaupt noch nicht gebildet wurde. Derartige Drüsenzellen zeigen manchmal ganz enorme, unregelmäßige, brockige Massen von Prosecret. Ich verweise hier auf die Fig. 15 u. 16, Taf. XIX, und besonders auf Fig. 8 u. 9, Taf. XX, in denen diese ganz einzigartigen, die herrlichsten Chromidien vortäuschenden Prosecretbrocken naturgetreu abgebildet sind. Wie schon erwähnt, zeigen sie oft eine leicht radiär oder längs gerichtete Anordnung (Fig. 15, Taf. XIX). Am schönsten kommt diese Orientierung bei Anschnitten der Drüsenzelle (Fig. 9, Taf. XX) zum Ausdruck.

Erwähnen möchte ich hier noch, daß bei Pepsinverdauung die Secretgranula gelöst werden, während das Prosecret unveränderlich bleibt. Man erhält dabei die gleichen Bilder, wie in Fig. 7 u. 9, Taf. XIX, abgebildet.

Derartige Stadien mittlerer Secretionsstärke haben Montgomery (99) vorgelegen; der Autor zog aus diesen Bildern den Schluß, daß diese Stränge aus dem Kern ausgetretene Nucleolen seien. Auf diese Ansicht kommen wir noch in einem eignen Kapitel zurück. Hier möchte ich nur darauf hinweisen, daß schon bei ganz oberflächlicher Betrachtung die rundlichen, mit Vacuolen ausgestatteten Chromatinbrocken des Kernes (»Nucleolen!«) nicht zu verwechseln sind mit den strangförmigen, unregelmäßig, zackig konturierten und vielfach miteinander anastomosierenden Resten des Prosecretes.

Abgekürzter Secretionsmodus ohne Prosecret.

Die Tiere, an deren Drüsen die beschriebenen Prosecretumsätze der Fig. 3—10, Taf. XIX, stattfanden, waren am 18. März 1911 (bei warmem Wetter) gefangen und am 20. März fixiert worden.

Bei Tieren, die ich kurze Zeit darauf (am 7. April von derselben Fundstelle) bekam, waren die Drüsen völlig prosecretfrei. Dafür waren sie aber mit Granula vollgestopft (Fig. 11, Taf. XIX). Diese Granula waren kleiner und kompakter als die zu Beginn der Secretion (18. März) und färbten sich chromatisch, wie die der später zu erwähnenden Hunger-Fütterungskultur (Fig. 5—7, Taf. XX).

Wie bei letzterer, so scheint auch hier die ungeheure Menge der Granula, ihre relative Dichte (und die dadurch bedingte Chromatophilie)

auf eine erhöhte Secretion — bei der die Prosecretstufe übersprungen wird — hinzudeuten.

Diese Annahme wird weiterhin durch folgende Experimente gestützt:

1. Der abgekürzte Secretionsmodus des Stadiums der Fig. 11, Taf. XIX, läßt sich auch experimentell herbeiführen: Ich brachte die Tiere am 21. März, als sie noch die Prosecretstadien der Fig. 3—8, Taf. XIX, zeigten, in eine Pilokarpinlösung 1 : 100 [1]). Dort verblieben die Tiere, die in der Lösung eine äußerst lebhafte Beweglichkeit zeigten, bis zu 24 Stunden.

Nach ungefähr 2 Stunden war bereits alles Prosecret zu den kleinen, chromatophilen Drüsengranula verarbeitet, so daß also die Drüsen der Prosecrettiere vom 21. März denen der maximalen Secretion vom 7. April (Fig. 11, Taf. XIX) glichen.

Besonderheiten an Kern und Zellstruktur waren bei diesem Versuch (außer zahlreich degenerierenden Drüsenzellen) nicht zu beobachten. Es gelang mir dabei nicht, die Drüsen derartig zu erschöpfen, daß eine einwandfreie Volumabnahme des Kernes und des Plasmas hätte nachgewiesen werden können. Vielleicht hätte man bessere Resultate in dieser Beziehung erhalten, wenn man schwächere Pilokarpindosen längere Zeit hätte wirken lassen. Ich fürchte aber, daß auch dann die Drüsenzellen, wie bei meinem Versuche, zahlreich degenerieren. Denn der Prozentsatz der degenerierenden Drüsen stieg mit der Pilokarpinisierungsdauer.

2. Umgekehrt läßt sich aber auch der abgekürzte Secretionsmodus der Fig. 11, Taf. XIX, wieder in den normalen mit Prosecretbildung experimentell überführen. Läßt man Tiere, deren Drüsen sich auf dem angezogenen Stadium der Fig. 11, Taf. XIX, befinden, hungern, so bildet sich — bei diesem herabgesetzten Stoffwechsel — das Prosecret wieder, das nun seinerseits erst wieder die Drüsengranula liefert. Die betreffenden Hungerdrüsen gleichen dann den Fig. 19—21, 26 u. 27, Taf. XIX, die später noch besprochen werden.

Hieraus ergibt sich die oben bereits angedeutete Gesetzmäßigkeit: Die Drüsen weisen zu Beginn der Secretionsperiode und bei herabgesetzter Secretion (Hunger) das basophile Prosecret auf. Bei Drüsen in maximaler Secretion (Höhepunkt der Laichzeit sowie Pilokarpinisierung) fällt die Vorstufe des basophilen Prosecretes aus.

---

[1]) Pilokarpin 1 : 100 »bewirkt Absonderung aller Drüsen«. Näheres bei H. Tappeiner: Lehrbuch der Arzneimittellehre. 1907, S. 246.

Der Kern

weist während der Secretion beträchtliche Volumen- und Chromotinschwankungen auf. In jungen Drüsenzellen besitzt er, wie erwähnt, nur wenige chromatische Brocken (Fig. 1, Taf. XIX). Diese werden bei steigender Drüsentätigkeit zahlreicher (Fig. 2—8, Taf. XIX), weisen reichliche Vacuolen auf und erfüllen in den Stadien der Fig. 8 u. 9, Taf. XIX, in beträchtlicher Anzahl [Montgomery (99) hat bis 300 gezählt] den auf das vielfache herangewachsenen Kern.

Nach dieser Periode der aufsteigenden Drüsentätigkeit, die in den Fig. 1—9, Taf. XIX, dargestellt ist, folgt die absteigende Involutionsperiode der Drüsenzellen (Fig. 10—14, Taf. XIX).

Zu Beginn dieser zweiten Periode nimmt der Kern an Volumen ab (Fig. 10, Taf. XIX, und Fig. 7, Taf. XX); seine Chromatinbrocken (die Nucleolen Montgomerys) werden weniger zahlreich, ob durch Zusammenfluß — worauf ihre Größenzunahme deuten würde — oder durch Resorption, konnte nicht festgestellt werden.

Inmitten der Secretmassen liegt dann der Kern (Fig. 11, Taf. XIX) beträchtlich zusammengeschrumpft, mit unregelmäßiger Oberfläche und mit nur wenigen, kaum färbbaren Chromatinbrocken.

Fast alle Zellen der Tiere vom 7. April wiesen diese maximalen Secretionsstadien auf. Hier hat es in der Tat den Anschein, daß der Kern erschöpft sei.

Ob man aber von einer Erschöpfung der Drüsenzelle als solcher sprechen kann, wage ich nicht zu entscheiden, da ich nicht weiß, wie lange dieses Stadium der maximalen Secretion anhält. (Nach dem 7. April konnte ich kein Material mehr bekommen, da die Teiche abgefischt waren, was ich aber im voraus nicht wußte.)

Ich glaube, daß diese maximale Secretion geraume Zeit hindurch erhalten bleibt, jedenfalls während der ganzen Laichzeit. Während dieser hat ein in Gefangenschaft gehaltener und dabei hungernder Egel — nach meiner allerdings nur einmal nebenbei gemachten Beobachtung — an die 100 und mehr Kokons abgelegt.

Die Fig. 12—14, Taf. XIX, möchte ich an unser Stadium Fig. 11, Taf. XIX, anschließen. Nach längerer Secretion scheint mir dann ein Ruhestadium zu folgen, während dem die letzten Granula austreten. Hierbei reduziert die Zelle beträchtlich ihr Volumen.

Der Kern auf dem Stadium der Fig. 11, Taf. XIX, angefüllt mit farblosen Nucleolen, kondensiert sich immer mehr. Seine Chromatinbrocken erhalten ihre alte färberische Affinität wieder (Fig. 12 u. 13,

Taf. XIX) und scheinen sich[1]) zu größeren nucleolenartigen Gebilden zusammenzuschließen (Fig. 14, Taf. XIX). Auf diesem Stadium hat die Zelle nach längerer Ruhepause ihren Kern regeneriert, so daß er der neuen Secretionsperiode anzugehören imstande ist.

Wie sich ein Stadium der Fig. 14, Taf. XIX, zur Normaldrüse mit ihren Prosecretmassen umbildet, konnte ich bei meinem in dieser Hinsicht ungenügenden Material nicht feststellen.

Für die charakteristische Nucleolenstruktur habe ich dagegen Übergangsstadien. Ich glaube, daß sich ein Kernstadium, wie das in Fig. 15, Taf. XIX, mit seinen wenigen großen Nucleolen vielleicht an das der Fig. 14, Taf. XIX, anschließen ließe. Bei dem Wiederbeginn der Secretion zerschnüren sich die Nucleolen (Fig. 15 u. 16, Taf. XIX) und bilden die für die secernierenden Drüsen typischen »polynucleolären« Kerne.

Das Kernwachstum der Fig. 1—9, Taf. XVII, läßt sich experimentell umkehren. Läßt man die Tiere hungern, so ergibt sich die in den Fig. 17—21, 22—27, dargestellte allmähliche Reduktion der Größe und des Chromatingehaltes der Kerne. Hierbei kann der Chromatingehalt des Kernes — wie erwähnt — auf drei Chromatinbrocken reduziert werden.

Das Prosecret.

Das lebhafteste Interesse bringen wir naturgemäß dem cytologisch hochinteressanten, chromatophilen Prosecret entgegen. Wenn es sich auch — wie erwähnt — schon aus der chronologischen Serie unsrer Fig. 3 bis 10, Taf. XIX, ergab, daß ein Chromatin- (bzw. Nucleolen-)austritt in der von Montgomery geschilderten Weise nicht stattfindet, so könnte man doch auf Grund der Lehre vom Chromidialapparat annehmen, daß die fragliche, chromatophile Substanz diffus aus dem Kern »herausgeschwitzt« wird, um dann den grobmaschigen, basophilen, im Plasma liegenden »Chromidialapparat« zu bilden. In diesem Falle wäre diese Substanz in der Tat als »Chromidium« zu bezeichnen, unter welchen Begriff sie ja auch von Goldschmidt (04) untergeordnet wurde.

Die Annahme eines diffusen Chromatinaustritts durch die Kernmembran wird ja von vielen Autoren, die eine Chromidienabgabe vonseiten des Kernes beschreiben, z. B. von Goldschmidt (05, 09), Schaxel (09, 10, 11), Jörgensen (10a), Popoff (10), Moroff (09), Isakowitsch (10) usw. gemacht. Und gerade bei unserm Objekt sehen wir die Kern-

[1]) Mit allzu großer Sicherheit möchte ich das nicht behaupten, da ich nur wenige Stadien dieser Art habe.

membran auf längere Strecken hin mit der chromatophilen Substanz (Fig. 7 u. 9, Taf. XIX), die diese Autoren ja unvorzüglich für ausgeschwitztes Chromatin halten, belegt. Aber auch diese Annahme erscheint mir falsch.

Der experimentelle Nachweis der morphologischen Entstehung des Prosecretes.

Es läßt sich nämlich nachweisen, daß diese basophile Substanz im Plasma de novo entsteht, und zwar morphologisch vollkommen unabhängig vom Kern.

Dieser Nachweis könnte in zweierlei Weise geführt werden.

1. Man kann die Bildung unsers chromatophilen Prosecretes in jugendlichen Drüsenzellen bei jungen Tieren verfolgen. Diese Methode führt bei unserm Objekt nicht zum Ziel, da schon die jüngsten Drüsenzellen (Fig. 1 u. 2, Taf. XIX) eine diffuse chromatische Verfärbung ihres Plasmas zeigen.

2. Wir können aber versuchen, experimentell in den morphologischen Aufbau unsrer Substanz einzudringen, dadurch, daß wir sie zuerst aus der Zelle entfernen und dann wieder aufbauen lassen.

a) Die künstliche Entfernung des Prosecretes erreicht man durch eine längere Hungerkultur der ganzen Tiere[1]). Schon nach 14tägigem Hunger (in gut durchlüfteten Gläsern bei Zimmertemperatur) erfuhren unsre Drüsenzellen und ihr chromatophiles Ergastoplasma folgende Veränderungen (Fig. 17—27, Taf. XIX).

Die Drüsen selbst nahmen beträchtlich an Volumen ab. Dabei blieb die Kernplasmarelation ungefähr die gleiche. Der Kerninhalt wurde — wie erwähnt — auf wenige Chromatinbrocken reduziert (Fig. 17 u. 18, Taf. XIX).

Das Prosecret, das in der normalen Drüse — allein oder neben dem definitiven Secret — das ganze Protoplasma dicht durchsetzt, schmilzt stark ab. Bei Hungertieren (14 Tage) findet man alle Übergänge von solchen Drüsenzellen, die überhaupt oder fast kein Prosecret mehr enthalten (Fig. 17, 18 u. 22, 23, Taf. XIX), bis zu solchen, die noch ziemliche Mengen davon aufweisen (Fig. 19—21 u. 24—27, Taf. XIX). Doch auch bei letzteren Zellen erfüllt das Prosecret nicht das ganze Plasma, sondern ist auf wenige Brocken und Stränge reduziert. Es bildet lange, plumpe, unregelmäßige Balken (Fig. 19, 20, 24 u. 27,

[1]) Das zu diesem Zweck angewandte Pilokarpinexperiment schlug — wie erwähnt — in dieser Hinsicht fehl.

Taf. XIX). Die häufiger anzutreffenden Brocken sind äußerst unregelmäßig und zeigen des öfteren in ihrer Mitte helle Vacuolen (Fig. 21 u. 26, Taf. XIX).

In dem Maße, wie das Prosecret schwindet, tritt die Protoplasmastruktur deutlicher zutage. Sie erscheint bei Sublimatfixierung grob vacuolär (Fig. 18, 22, 26, Taf. XIX).

Trotz ihrer Volumabnahme und trotz des Schwundes von Prosecret haben die Hautdrüsen während des Hungers die Secretbereitung nicht völlig eingestellt. Die schon beträchtlich reduzierten Drüsen der Fig. 18 sind noch zur Hälfte mit definitiven Secretkörnern gefüllt, wie auch die noch leistungsfähigeren Zellen der Fig. 20 u. 25, Taf. XIX. Ein interessantes Stadium zeigt Fig. 23, Taf. XIX: die ganze Zelle ist trotz ihrer maximalen Größenreduktion bis auf die wenigen unten gelegenen Prosecretreste mit Drüsengranula vollgestopft.

Immerhin finden sich nach 14tägigem Hunger noch die gezeichneten Prosecretreste. Will man auch diese verschwinden lassen, so muß man die Hungerperiode auf 4 Wochen ausdehnen: Ausgewachsene, geschlechtsreife Piscicolae, die in ihrem Darm kein gesaugtes Blut mehr erkennen ließen, wurden also bei einer Temperatur von 17—20° C 4 Wochen lang bei absolutem Hunger belassen. Die Drüsenzellen nahmen bei diesem ausgedehnten Hungerversuch die Struktur der in Fig. 1 u. 2, Taf. XX, dargestellten Stadien an, und zwar ausnahmslos alle Hautdrüsen der betreffenden Tiere. Die Zellen selbst hatten (Protoplasma, Kern und Chromatingehalt des Kernes ungefähr gleichmäßig) an Volumen abgenommen. Das Prosecret war vollständig aus dem Plasma geschwunden. Nur vereinzelt waren helle gequollene Granula zu sehen (Fig. 2, Taf. XX). Der Kern zeigte relativ wenig, nur schwach gefärbte Chromatinbrocken.

β) Nach vierwöchentlichem Hunger wurden nun die Piscicolae wieder auf den Karpfen gesetzt, wo sie sich sofort gierig vollsogen. Nach bestimmten Zeitintervallen wurden immer je zwei Tiere fixiert[1]). Die nach 6 und 24 Stunden eingelegten Tiere zeigen noch die maximal erschöpften Drüsen (die Fig. 1 u. 2, Taf. XX, sind von einem Tier, das schon seit 24 Stunden wieder vollgesaugt war).

Erst nach 48 Stunden setzte die Bildung des Prosecretes ein und zwar gleich ziemlich beträchtlich: Die Zelle, ihre Kern und deren Chro-

[1]) Diese Hungerdrüsen sind sehr schwer gut zu fixieren. Sie haben das aufgebrauchte Prosecret durch eine Flüssigkeit ersetzt: das derart flüssigkeitsreiche Protoplasma wird bei der Fixierung leicht zerrissen, so daß sich große — jedenfalls artifizielle — Vacuolen im Plasma bilden (Fig. 3 u. 4, Taf. XX).

matinbrocken waren merklich gewachsen (Fig. 3 u. 4, Taf. XX). Die Chromatingranula im Kern färbten sich jetzt intensiv. Im Plasma fanden sich, meist an der basalen Zellseite beginnend, die ersten Prosecretstufen in Form regelmäßig in Längsreihen angeordneter zackig konturierter Balken, die sich auf dem Protoplasmareticulum niedergeschlagen hatten.

Die Kernmembran war völlig intakt.

Ein morphologischer Austritt von »Nucleolen« oder sonstigem Chromatin aus dem Kern war bestimmt auszuschließen, besonders in den Fällen, in denen noch alte Granula an der Kernmembran lagen, so daß das neugebildete Prosecret die Kernmembran überhaupt nicht berührte (Fig. 4, Taf. XX rechts). Die Struktur des Prosecretes war, wie die normaler Drüsen. Es war in keiner Hinsicht mit den viel kleineren Chromatinbrocken des Kernes zu verwechseln. Die Tiere nach 48stündiger Nahrungsaufnahme wiesen alle Übergänge vom Beginn der Prosecretbildung (Fig. 3 und 4, Taf. XX) bis zur Lieferung der ersten Secretgranula auf (Fig. 5 u. 6, Taf. XX). In Fig. 6, Taf. XX, sind schon wieder große Mengen von Prosecret in definitive Granula verwandelt.

Diese Granula sind — jedenfalls infolge der etwas überstürzten Secretproduktion — anders gebaut als die bei normaler Secretion zu Beginn der Laichzeit. Dort sind die Granula — wie oben erwähnt — groß, klar und oxychromatisch (Fig. 3—10, Taf. XIX). Bei der schnellen Secretbereitung der Hungerdrüsen sind die Granula dicht, klein und basichromatisch (Fig. 5 u. 6, Taf. XX), wie wir das oben bereits für Normaldrüsen auf dem Höhepunkt der Secretion (Fig. 11, Taf. XIX) geschildert haben.

Nach 72 Stunden Ernährung sind fast alle Drüsenzellen der untersuchten Tiere mit definitiven Secretgranula vollgestopft (Fig. 7, Taf. XX): das ganze Prosecret ist wieder in Drüsensecret umgewandelt.

Diese Versuchsreihe erbringt den morphologischen Beweis für die plasmatische Neubildung des chromatophilen Prosecretes und widerlegt an der Hand morphologischer Tatsachen die von den Chromidienforschern verwertete Angabe Montgomerys von dem Austritt von »Nucleolen« in den *Piscicola*-Drüsen.

Das Verdauungsexperiment.

Einen weiteren entscheidenden Beweis liefert die chemische Analyse auf Grund der Verdauungsversuche (Fig. 10—13, Taf. XX).

Das in Alkohol fixierte Material zeigt die mit Chromatinfarben (in biesem Falle Delafield-Eosin) stark färbbaren Prosecretmassen im Plasma (Fig. 10, Taf. XX).

a) Nach halbstündiger Pepsinsalzsäureverdauung (bei 37°) ist das definitive Secret zwar verschwunden; das Prosecret ist aber wie der Kern unverdaulich (Fig. 13, Taf. XX).

b) Bei alkalischer Trypsinverdauung ist dagegen nach einstündiger Einwirkung (37° C und dauernde Kontrolle unter dem Mikroskop) das basophile Prosecret vollständig gelöst, der Kern und sein Chromatin aber noch völlig unberührt.

Das Prosecret ist also bei der Trypsinverdauung (Fig. 11 u. 12, Taf. XX) in kurzer Zeit löslich, der Kern bleibt dabei unverdaulich (wie die definitiven Secretgranula).

Dieses verschiedene Verhalten läßt auch auf chemische Differenzen zwischen beiden Strukturen schließen, obwohl beide in gleicher Weise von Chromatinfarben tingiert werden.

All diesen unsern morphologischen und physiologischen Resultaten, die in dem Prosecret eine rein plasmatische Bildung sehen, die in völliger morphologischer Unabhängigkeit vom Kern steht, widersprechen nun:

Die Befunde Montgomerys (99).

Damit sich der Leser selbst ein Urteil bilden kann, ob die Interpretation unsers Autors richtig ist oder nicht, gebe ich hier an der Hand der in Textfig. 3—6 kopierten Montgomeryschen Bilder eine ausführliche Schilderung seiner Befunde:

Montgomery unterscheidet richtig im Leben der Drüsenzellen die zwei Perioden:

1. Die Prophase, die von der unreifen Drüsenzelle bis zu der mit Secret angefüllten Zelle reicht, und

2. die Metaphase, während welcher die Zelle ihr Secret entleert und wieder zur funktionslosen, unreifen Zelle zurückgebildet wird.

In den kleinsten Zellen, die noch kein Secret aufweisen (Textfig. 3, *b*) findet sich im Kern nur ein Nucleolus.

a) Das anfangs lockere Cytoplasma wird besonders in der Nähe des Kernes bald dichter, so daß es fast homogen erscheint. Gleichzeitig nimmt es eine specifische Färbung an.

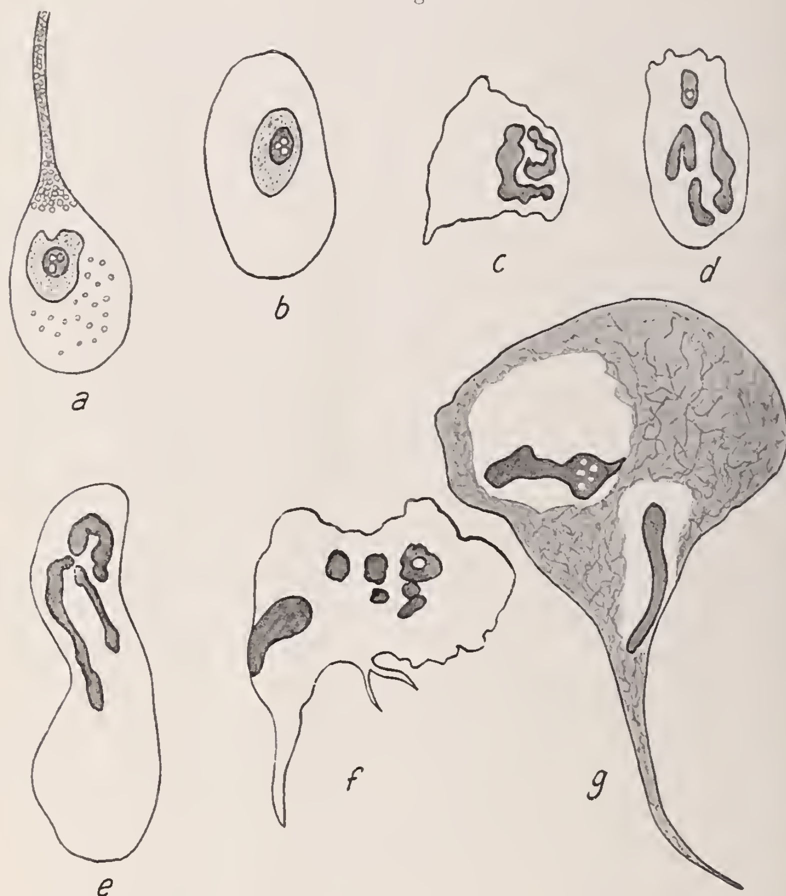
Dieses specifische Plasma zerfällt in die kugeligen Secretgranula, die sich zuerst (Textfig. 3, *a*) wie das homogene Plasma, späterhin in funktionsreifen Drüsen aber anders färben. Mit diesen Secretgranula wird die ganze Zelle angefüllt, bis allmählich überhaupt keine Spur des Protoplasmas zu sehen ist.

Am Ende der Prophase hat die Zelle ihre maximale Größe, der Drüsenausführgang seinen größten Durchmesser erreicht. Beide enthalten hunderte von reifen Secretgranula, die in einer ungefärbten, strukturlosen Flüssigkeit liegen.

b) Während dieser Secretproduktion wächst der Kern rapid an Größe und sendet lange, verzweigte Fortsätze aus, die untereinander anastomosieren und bis zur Zellmembran reichen können (Textfig. 3 u. 4, *f*, *g*, *h*).

Wenn die Drüsenzelle die größte Masse ihrer homogenen Substanz ausgebildet hat (also vor Ausbildung der Secretgranula), ist der Kern am meisten ramifiziert.

Textfig. 3.



Da der Kern gleichzeitig wächst, muß er Substanz aus dem Plasma aufnehmen. Hierbei wird sein Chromatinreticulum lockerer.

c) Der bis dahin in Einzahl vorhandene Nucleolus (Textfig. 3, *a*, *b*) wächst heran, wird stäbchenförmig ausgezogen und zerfällt in mehrere Bruchstücke (Textfig. 3, *c*, *d*, *e*). Die Nucleolen sind intensiv färbbar.

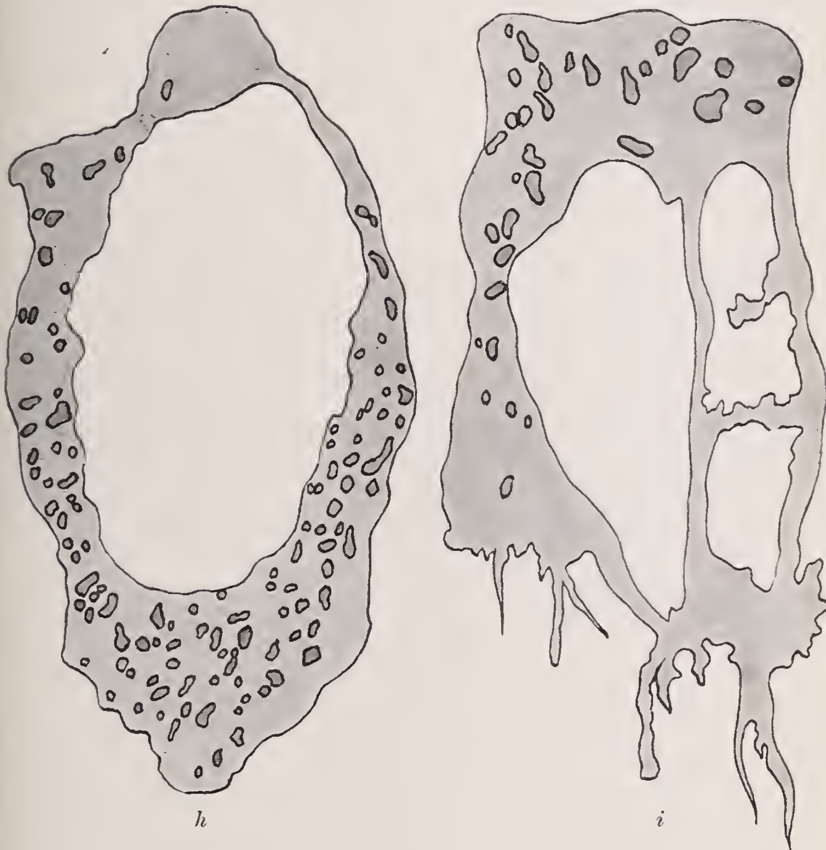
Hat der Kern seine größte Dimension und den höchsten Grad seiner Ramifikation erreicht, so enthält er mehrere (bis drei) Hundert ungleich großer »Nucleolen« (Textfig. 4, *h* u. *i*)[1]).

[1]) Die Figuren sind nach 3—5 μ dicken Schnitten gezeichnet und enthalten

Ihre enorme Anzahl läßt darauf schließen, daß außer dem ursprünglich vorhandenen, dann zerfallenen Nucleolus auch noch neue Nucleolen anschießen.

d) Jetzt tritt nun die Kernveränderung ein, von der Montgomery selbst angibt, daß er sie bei keinem andern Objekt bisher gesehen habe.

Textfig. 4.



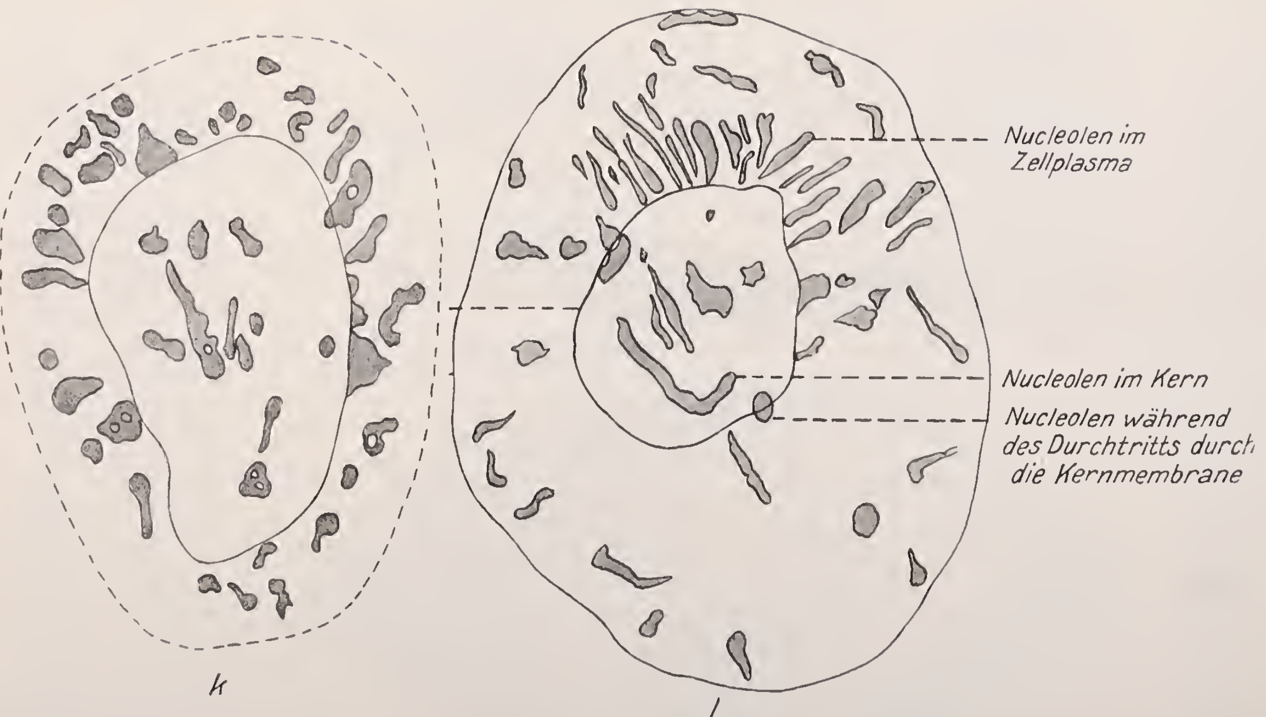
Wenn die homogene Substanz der Zelle sich in die Secretkörner zu differenzieren beginnt, zieht der Kern seine Fortsätze zurück und nimmt an Größe ab. Dabei werden seine Nucleolen aus dem Kern in den Zellkörper hineingepreßt (Textfig. 5, *k*, *l* und Textfig. 6, *m*).

Diese Tatsache des Nucleolenaustritts wurde an 200 Kernen nachgeprüft. Alle Übergangsstadien wurden aufgefunden zwischen solchen Kernen, die nur wenige Nu-

---

demnach — im Vergleich zum ganzen Kern — nur relativ wenige Nucleolen. Unsre Zeichnungen sind nach 10 μ dicken Schnitten hergestellt.

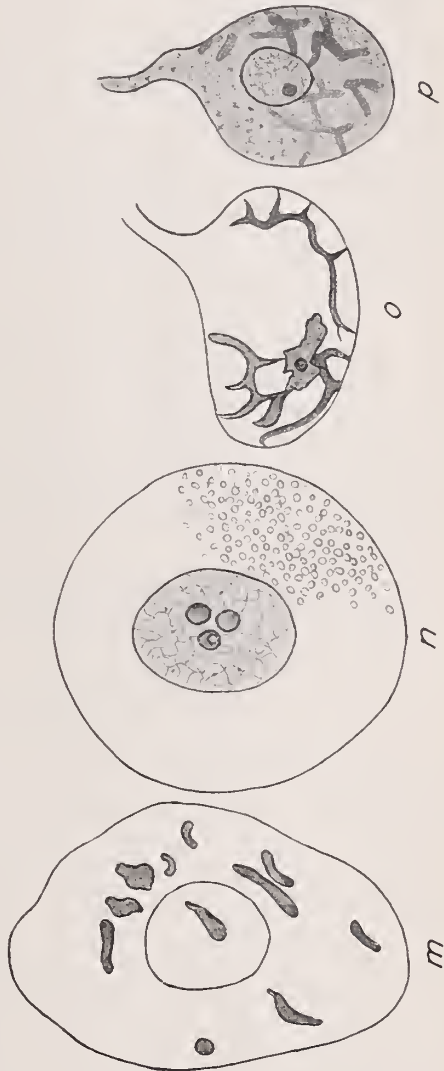
Textfig. 5.



Hautdrüsen von *Piscicola* (nach Montgomery, 99). Die Nucleolen sind noch zum Teil im Kern befindlich, teils im Durchtritt durch dessen Membran begriffen, teils liegen sie schon im Plasma.

cleolen von sich geben bis zu solchen, die alle außer einem hatten austreten lassen. Gezeichnet wurden nur die drei reproduzierten Stadien *k*, *l* und *m*.

Der Austritt der Nucleolen ist zurückzuführen auf Kontraktionen des Kernes. Hierbei werden zuerst die peripher liegenden Nucleolen ausgepreßt. Die central gelegenen werden später ausgestoßen. Deshalb finden sich in den Zellen auch mehr oder weniger parallele Reihen von Nucleolen, die oft in konzentrischen Kreisen angeordnet sind (Textfig. 5, *k* u. *l*). In diesen Figuren wurden die Nucleolen auch bei ihrem Durchtritt durch die Kernmembran beobachtet.



Textfig. 6.

Da aber die Kontraktionen des Kernes plötzlich sind, so finden sich die meisten Nucleolen entweder inner- oder außerhalb der Kernmembran.

Zur Erklärung dieser Kernkontraktionen nimmt Montgomery an, daß der Druck im Kern größer ist als außerhalb. Bei dem gewaltsamen Ausgleich werden die innerhalb des Kernes nicht fixierten Nucleolen durch die Kernmembran, an der Poren nicht nachgewiesen werden konnten, hindurchgepreßt.

Die radiäre Gruppierung der Nucleolen erklärt sich nach demselben Prinzip, nach dem bei einem mit Wasser gefüllten Schwamme durch den Druck der Hand das Wasser in radiär zur Oberfläche des Schwammes stehenden Strahlen ausfließt (Textfig. 5, *l*).

Die Nucleolen treten so lange aus, bis von den mehreren Hundert nur noch 20, dann 12, schließlich 4 oder 5 und endlich nur noch ein einziger Nucleolus im Kern zurückbleibt.

Die ins Cytoplasma ausgetretenen Nucleolen (Textfig. 5, *k*, *l* und Textfig. 6, *m*) unterscheiden sich von denen innerhalb des Kernes durch ihre geringere Dichte, ihre größere Gestalt und durch ihre verschiedene Reaktion gegenüber gewissen Färbungen. Die Nucleolen scheinen demnach physikalische und chemische Veränderungen im Plasma durchzumachen.

Ihre Volumzunahme ist auf die Abnahme der Pressung zurückzuführen, die im Zellkörper geringer ist als innerhalb des Kernes.

Die Metaphase des Zellkörpers beginnt, wenn die Zelle mit Secretkörnern gefüllt ist und das früher vorhandene, homogene specifische Plasma geschwunden ist. Dann wird das Secret durch den Drüsenausführgang entleert. Noch schneller als die Zelle nimmt hierbei der mononucleoläre Kern an Volumen ab (Textfig. 6, *o*).

e) Was ist nun unterdessen aus den ins Cytoplasma getretenen Nucleolen geworden (Fig. 5 u. 6, *l*—*p*)? Sie haben während der Abnahme des Zellvolumens ihre Stäbchenform eingebüßt und sind zu einem groben, unregelmäßigen Netzwerk verschmolzen, das sich durch seine differente Färbung deutlich vom Plasma unterscheidet (Textfig. 6, *o*, *p*). Bei oberflächlicher Betrachtung könnte man dieses Netzwerk als weitgehende Verzweigungen eines verästelten Kernes ansehen. Ein sorgfältiges Studium zeigt aber, daß der Kern keine Verästelungen mehr aufweist.

Auch dieses Netzwerk verschwindet zum Schluß. Wo es hinkommt, kann Montgomery nicht angeben.

1. Es ist zweifelhaft, ob es durch die Zellmembran nach außen entfernt wird!!,

2. oder ob es zu Cytoplasma umgewandelt wird. Sicherlich wird es nicht durch den Drüsenausführgang secerniert.

3. Es ist aber auch möglich, daß eine Portion der Nucleolarsubstanz im Plasma zurückbleibt und bei der folgenden Prophase (zu Beginn der Laichzeit) dem einzigen, noch im Kern befindlichen Nucleolus das für sein Wachstum und seine Vermehrung notwendige Material liefert. Es alternierte dann eine Periode der Herausschaffung der Nucleolarsubstanz aus dem Kern mit einer Periode, während der sie wieder in den Kern zurückwanderte.

Die Nucleolarsubstanzen im Plasma tingieren sich bei verschiedenen Doppelfärbungen von den Nucleolen im Kern different. Deshalb wird eine chemische Änderung der »Nucleolen« im Plasma angenommen.

Kritik der Montgomeryschen Befunde.

a) Ganz richtig hat Montgomery das homogene Ergastoplasma der Drüsenzellen und seine Umwandlung in das definitive Secret erkannt. Leider hat er es nirgends abgebildet.

b) Dabei soll der Kern heranwachsen und die in den Textfig. 3 u. 4, *f*, *g*, *h*, *i*, abgebildeten, weit verzweigten und anastomosierenden Ausläufer aussenden.

Ich brauche wohl nicht darauf hinzuweisen, daß derartige mehrfache Lochkerne (*h*, *i*) mit ihrer mehr als zerfetzten Oberfläche das Resultat einer — sagen wir mal — schlechten Fixierung sind.

Der Kern kann zuweilen ja mal an dem einen Pol etwas zipfelig ausgezogen sein (Fig. *g*); Montgomery hat aber wenig Achtung vor seinen Lesern, wenn er ihnen die Fig. *f*, *h* u. *i* als normale Stadien vorführt.

c) Wie wir, so hat Montgomery im ausgewachsenen Kern mehrere Hundert Chromatinbrocken, die er Nucleolen nennt, nachgewiesen. Er läßt sie sich alle aus einem einzigen Nucleolus entwickeln. Infolge der

schematischen Bilder unsers Gewährsmannes kann ich meine Vermutung, daß er mehrere Zellarten durcheinander geworfen hat, nicht beweisen.

d) Aber das kann ich beweisen, daß er bei seiner Schilderung eines »Nucleolenaustrittes« aus dem Kern einem — Irrtum zum Opfer gefallen ist.

Dieser Austritt, dessen ganz einzigartiges Vorkommen MONTGOMERY selbst betont, wird durch die drei schematischen Bilder *k*, *l*, *m* belegt. Einen derartig cytologisch wichtigen und in seiner Art singulären Prozeß pflegt man an der Hand zahlreicher, gut ausgeführter Bilder zu demonstrieren. Die schnell hingeworfenen Umrißskizzen (die in auffälligem Gegensatz zu den sonst ganz sorgfältig ausgeführten Zeichnungen der andern Objekte der MONTGOMERYschen Arbeit stehen) lassen von vornherein im Leser den Verdacht aufsteigen, daß irgendetwas dabei nicht seine Richtigkeit gehabt hat. Und das ist in der Tat der Fall.

Der Beginn des Nucleolenaustritts fällt nach MONTGOMERY in die Zeit, wo das homogene Ergastoplasma sich in die Secretkörner umwandelt, also in die Stadien der Fig. 7 und 9 unsrer Taf. XIX. Unmittelbar mit den MONTGOMERYschen Bildern eines »Nucleolenaustritts« (Textfig. 5 u. 6, *k*, *l*, *m*) zu vergleichen sind unsre Fig. 15 u. 16, Taf. XIX, und Fig. 8 u. 9, Taf. XX.

Schon allein aus diesem Vergleich geht auf das deutlichste hervor, daß MONTGOMERY die bei der Secretbildung auftretenden strangförmigen Reste des Prosecretes für austretende oder bereits ausgetretene Nucleolen gehalten hat.

Diese falsche Beobachtung stützt MONTGOMERY nun durch zahlreiche Hypothesen.

1. Der Austritt der Nucleolen wird zurückgeführt auf eine hypothetische Kontraktion des Kernes[1])!

2. Da man nur selten Nucleolen im Moment des Durchtritts findet, sondern sie nur entweder inner- oder außerhalb des Kernes beobachtet, wird angenommen, daß diese Kernkontraktionen plötzliche sind!

3. Damit der Kern sich kontrahieren kann, muß weiterhin angenommen werden, daß er eine größere Spannung besitzt als das Protoplasma[1]).

4. Dies wird bewiesen durch die Nucleolen selbst, die im Cytoplasma weniger dicht sind, eine größere Gestalt aufweisen und sich verschieden

---

[1]) Wenn im Kern ein größerer Druck herrscht als im Plasma, so kann sich zum Zweck eines Ausgleiches dieses erhöhten Druckes innerhalb des Kernes — doch nur der Kern selbst ausdehnen. Der Kern kann sich doch bei seinem erhöhten Druck nicht noch dazu kontrahieren, wie das MONTGOMERY annimmt.

färben von denen innerhalb des Kernes. Ihre Volumzunahme im Plasma ist darauf zurückzuführen, daß im Zellkörper ein geringerer Druck herrscht als im Kern!!!

Montgomery mutet also seinen Lesern zu, nicht zu wissen, daß Flüssigkeiten — und die Nucleolen sind doch nach Montgomerys Schilderung flüssigvisköse Gebilde — überhaupt nicht komprimierbar sind, besonders aber nicht durch den geringen Druck innerhalb eines Kernes.

5) Die längliche Form der Nucleolen und ihre radiäre Anordnung im Plasma wird auf die gewaltsame Pressung durch die Kernmembran zurückgeführt[1]).

6. Wenn sich die Nucleolen im Plasma ganz anders färben als die im Kern, so haben wir daraus nicht zu schließen, daß beide Strukturen vielleicht gar nicht zusammen gehören (wie das ja am nächstliegenden wäre und dann auch in der Tat der Fall ist), sondern wir nehmen weiterhin einfach an, daß sich die Nucleolen eben im Plasma verändern!

e) Die ausgetretenen Nucleolen vereinigen sich zu einem Reticulum: ein weiterer Beweis für unsre Ansicht, daß Montgomery die anastomosierenden Massen des Prosecrets für ausgetretene Nucleolen gehalten hat.

Über das Schicksal dieser, jetzt plasmatischen Nucleolarsubstanz weiß Montgomery nichts anzugeben. Die unglaublichsten Möglichkeiten (ihr weiterer Durchtritt auch durch die Zellmembran nach außen) werden angenommen. Auf den Gedanken, daß die »Nucleolarsubstanz« vielleicht zu Secret verarbeitet werden könnte, ist Montgomery nicht gekommen. Die Bedeutung und der Zweck des Nucleolaraustritts ist ihm völlig unklar geblieben. —

Dies die Ergebnisse der Montgomeryschen Befunde, die in charakteristischer Weise die hypothetische Gedankenwelt eines Cytologen illustrieren. Das zusammenfassende Urteil über die Montgomeryschen Angaben muß ich dem Leser überlassen.

Hier möchte ich nur noch kurz einmal unsre Resultate zusammenfassen und auf folgende Punkte hinweisen.

---

[1]) Daß in Drüsenzellen Nucleolen aus dem Kern ausgestoßen werden, ist auch von andrer Seite beschrieben. Nach Ogata sollen in Pankreaszellen Kernnucleolen ins Cytoplasma übertreten und dort die Nebenkerne bilden. Nach Lukjanoff und Platner soll eine Abschnürung von Kernchromatin zu seiner Bildung Veranlassung geben. Bei *Astacus* sollen nach Vigiers Angaben die Nucleolen zuerst mit der Kernmembran verschmelzen und dann durch Einfältelung des Kernes ins Cytoplasma gelangen. — Ich möchte auf diese und andre Befunde nicht weiter eingehen, da das in sachlicher Weise nur bei einer Nachuntersuchung der betreffenden Objekte möglich ist. Verschiedene Objekte können sich ja verschieden verhalten.

1. Das strangförmige, zackig konturierte, häufig anastomosierende Prosecret ist schon — rein morphologisch — nicht mit den kugeligen und häufig vacuoligen Chromatinbrocken des Kernes zu verwechseln.

2. Bei »Chromatin«farben findet sich zwar eine gleiche Färbbarkeit beider Substanzen; bei zahlreichen andern Doppelfärbungen (z. B. Zimmermann, Fig. 17—21, Taf. XIX) findet sich dauernd eine scharfe färberische Differenz beider Strukturen, wie sie auch schon Montgomery gesehen hat.

3. Unsre vierwöchige Hunger-Futterkultur (Taf. XX) bewies, daß eine Neubildung des Prosecretes niemals unter morphologischer Beteiligung des Kernes erfolgt.

4. Schließlich zeigten die Verdauungsexperimente, daß sich das Prosecret dem Trypsin gegenüber ganz anders verhält als das Chromatin des Kernes, daß also auch chemische Differenzen existieren.

Alle diese Tatsachen beweisen die völlige morphologische Unabhängigkeit und Selbständigkeit beider Strukturen voneinander.

Daß beide trotzdem in nahem physiologischem Zusammenhang stehen, ist sehr wahrscheinlich bei der Parallelität zwischen Kern und Plasmawachstum usw.

Allgemeiner Teil.

I. Die beiden beim Wachstum und der Secretion der Drüsenzelle tätigen morphologischen Strukturen.

Jedenfalls ist aber für die Drüsentätigkeit nicht etwa einseitig der Kern verantwortlich zu machen, wie die Lehre vom Chromidialapparat der Metazoenzelle will, wenn sie postuliert:

Der Kern stößt Chromidien aus, die, sei es selbst, sei es durch ihren Energieumsatz die Secretbereitung einleiten und durchführen.

In unsern Drüsenzellen haben wir deutlich und wohlunterscheidbar zwei Komponenten, die in der Hauptsache am Drüsenwachstum beteiligt sind, und zwar jede in ihre Art. Das sind:

1. Der Kern, der während der Entwicklung der Drüse selbst (Fig. 1—3, Taf. XIX) und während der Vorbereitungsstadien (Fig. 3—9, Taf. XIX) beträchtlich an Volumen heranwächst und reichliche Chromatinmassen ausbildet; während der Austreibungsstadien aber zusammenschrumpft (Fig. 10, Taf. XIX) und die basische Färbbarkeit seiner Chromatingranula verliert (Fig. 11, Taf. XIX).

Daß ein Kern mit derartigen Metamorphosen an der Drüsensecretion beteiligt ist, liegt auf der Hand. Die Art und Weise aber, wie er in die

secretorische Tätigkeit der Drüse eingreift, ist durch eine morphologische Untersuchung nicht zu lösen.

Das allein steht fest, daß der Kern viel »Chromatin« ausbildet, das während der Drüsentätigkeit allmählich aufgebraucht zu werden scheint. Hierbei scheint der Kern bei seiner bedeutenden Volumabnahme (Fig. 9 bis 11, Taf. XIX) Substanz in das Plasma abzugeben. Diese Substanzabgabe erfolgt aber in gelöstem Zustande; d. h. ein Chromidienaustritt findet nicht statt.

2. Die bisher als »Chromidien« gedeuteten Gebilde sind Reste eines Prosecretes, das morphologisch selbständig im Plasma auftritt (siehe das Hunger-Futterexperiment). Es ist schon in jungen Drüsenzellen vorhanden und bewirkt durch sein morphologisch scheinbar selbständiges Wachstum — mit — die enorme Volumzunahme der Drüsenzellen (Fig. 2 bis 8, Taf. XIX). Gleichzeitig ist es die Muttersubstanz der Drüsengranula.

Die Bildung der Drüsengranula aus dem Prosecret scheint (morphologisch) vom Kern unabhängig zu sein. Ich fand nämlich degenerierte Drüsenzellen mit pyknotischen Kernen, in denen große Ballen von Prosecret in Drüsengranula zerfielen.

Daß bei der Bildung und bei dem enormen Wachstum des basophilen Prosecretes der Kern irgendwie beteiligt sein kann, wird nicht in Abrede gestellt. Da diese Beteiligung sich aber auf die Lieferung oder Resorption gelöster Stoffe beschränkt, so ist sie weder zu beweisen noch zu widerlegen.

Dieser Secretionsmodus der Bildung eines basophilen Prosecretes, das sich in die definitiven Drüsengranula verwandelt, ist bei *Piscicola* nicht auf die Hautdrüsen beschränkt, sondern findet sich auch bei den:

1. einzelligen Drüsen des Epithels der Vasa deferentia;
2. ganz riesigen einzelligen Drüsen, die in nur geringer Anzahl vor dem Geschlechtsapparat liegen. Sie erreichen das vielfache Volumen der Hautdrüsen und besitzen ein granuläres Secret. Ihre Bedeutung ist uns nicht bekannt.
3. becherförmigen Drüsen, die sich besonders reichlich im Vorderende und dessen Saugnapf finden. Ihr anastomosierendes Prosecret ist halbkugelförmig an der Zellbasis gelegen. Ihr Secret ist homogen. — Eine genaue Untersuchung dieser verschiedenen Zellarten auf ihre physiologische Bedeutung hin — wäre sehr erwünscht.

Homogene, basophile Prosecrete kommen sicherlich auch in andern Drüsenzellen vor. Soweit ich das ohne eigne Kenntnis des Objektes

beurteilen kann, scheinen mir die von ISAKOWITSCH (10) beschriebenen Randdrüsen von *Porpita* hierher zu gehören.

Die Basophilie ist ja eine altbekannte Eigenschaft der Ergastoplasmen der Drüsenzellen, und von körnigen, fädigen, strangförmigen, knäuel- und nebenkernartigen Strukturen, sowie von den Basalfilamenten her bekannt.

II. Vergleich zwischen Drüsen- und Eizelle.

Außer bei Drüsenzellen finden sich die gleichen Wachstums- und Secretbildungsverhältnisse auch bei Eizellen, wie ich in einer gleichzeitig erschienenen Arbeit für das *Patella*-, Fisch- und zahlreiche andre Eier nachgewiesen habe.

In den jungen Oocyten vieler Tiere ist das Riesenwachstum auf folgende morphologisch faßbare Faktoren (von denen hier nur zwei erwähnt seien) zurückzuführen.

1. Wächst der Kern enorm heran und bildet reichliches Chromatin (in diesem Falle aber Oxychromatin) aus. Das Wachstum des Eikernes ist dem des Drüsenkernes zu vergleichen.

2. Bildet sich im Plasma eine stark basophile Substanz aus, die gleichfalls morphologisch unabhängig vom Kern heranzuwachsen scheint und die die Dottergranula mit bilden hilft. Hierbei wird sie völlig aufgebraucht; ein Verhalten, das bis ins einzelne dem der Drüsenzellen entspricht.

Zum Vergleich bitte ich die Halbtaf. IIIb unsrer »Beiträge zum Problem des Eiwachstums« einzusehen.

Ohne Zweifel ist also, sowohl in Drüsen- wie in Eizellen, das Riesenwachstum (bei Drüsen siehe Fig. 1—9, Taf. XIX) und die Secretbildung auf ähnliche Wachstumsverhältnisse der Kerne und der basophilen Prosecrete zurückzuführen.

III. Das basophile Prosecret.

der Drüsen- und Eizellen scheint mir demnach ein spezielles, plasmatisches Organell dieser secretionstüchtigen Zellen zu sein. Als Eigenschaften dieses Organells wären anzusehen:

1. Seine Fähigkeit, durch Auswahl geeigneter Stoffe aus dem Nahrungsstrom (Leibeshöhle bei *Piscicola*), die zu seinem Aufbau unentbehrlichen Stoffe in enormer Masse zu speichern und sie sich (durch Synthese) zu assimilieren.

2. Seine Fähigkeit, die definitiven Drüsengranula zu bilden.

(Fuxinophile Granula, denen der Charakter von Organoiden zuzusprechen wäre, gibt es in den *Piscicola*-Drüsen nicht. Hiermit ist aber nicht gesagt, daß die Lehre Altmanns von dem Vorhandensein selbständiger Bioblasten, Lebenseinheiten in Gestalt von Granula durch die Befunde an andern Drüsenzellen etwa nicht bestätigt wird. Überall in der cellulären Natur und auch hier bei den Drüsenzellen findet sich ja eine sehr große Specifizität.)

So ist es sehr wohl — besonders in Rücksicht auf die verschiedenen definitiven Secretionsprodukte — denkbar, daß die Laboratorien für die Secretbildung (in Drüsen- und Eizellen)

1. einmal kompakte Prosecretmassen sind,
2. Altmannsche Granula } = granulärer Secretionstypus,
3. Bendasche Mitochondrien }
4. fädige Plasmastrukturen und Basalfilamente } = fädiger Secretions-
5. fädige Knäuel, Wickel und Nebenkerne } typus.

Bei allen diesen Secretionstypen entspricht dem secretleeren Zustande der Zellen das Maximum in der Ausbildung des betreffenden Ergastoplasmas — und umgekehrt.

Dabei zerfällt aber das Ergastoplasma nicht direkt in die Secretgranula, sondern liefert nur einen Teil der die Secretgranula aufbauenden Substanzen. Wie in den meisten bisher beschriebenen Fällen, so sind auch bei *Piscicola* die ergastoplasmatischen Substanzen (Prosecret) chemisch different von den Secretgranula.

1. Der Eisengehalt:
   a) das Prosecret ist eisenfrei;
   b) die Secretgranula sind eisenhaltig (bei der Listschen Methode).
2. Verdaulichkeit mit Pepsin:
   a) das Prosecret ist unverdaulich;
   b) die Secretgranula sind verdaulich (Fig. 13, Taf. XX).
3. Verdaulichkeit mit Trypsin:
   a) das Prosecret ist verdaulich (Fig. 12, Taf. XX);
   b) die Secretgranula sind unverdaulich (Fig. 11, Taf. XIX).

(Ganz ähnliche chemische Differenzen bestehen zwischen dem Ergastoplasma des *Patella*-Eies und seinen definitiven Dottergranula.)

Die Metamorphose des basischen Prosecretes zu den definitiven, oxychromatischen Secretgranula muß demnach durch einige Zwischenglieder verknüpft sein, die morphologisch nicht zu fassen sind.

Sicher ist nur, daß unser basophiles, homogenes Prosecret dabei völlig aufgebraucht wird, wie das auch für den granulären und fädigen Secretionstypus beschrieben ist.

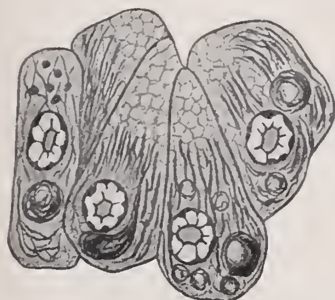
Einen Vergleich all dieser homogenen, granulären und fädigen, sowie knäuel- und nebenkernartigen Ergastoplasmen will ich hier nicht ziehen. Er kann mit Erfolg nur auf Grund eigner Untersuchungen an den betreffenden Objekten durchgeführt werden. Denn — wie ich hier besonders betonen möchte —:

IV. Die allerverschiedensten Produkte von völlig verschiedener Herkunft und völlig verschiedener Bedeutung für das Zellenleben können die gleichen morphologischen Strukturen annehmen.

Ich verweise hier nur auf drei, morphologisch völlig gleiche Zelleinschlüsse, die alle drei unter den Begriff des Chromidialapparates zusammengefaßt wurden (Textfig. 7—11).

1. In Textfig. 7 sind die bekannten fädig aufgeknäuelten Nebenkerne der Amphibien- (Frosch)pankreas nach den Angaben von Mathews (99) dargestellt. Sowohl die fädigen Ergastoplasmen wie die »Nebenkerne« dieser Drüsen sind nach Goldschmidts Bericht [04, S. 52; Textfig. *E* und Fig. 56, Taf. VI] als aus dem Kern ausgetretenes Chromatin aufzufassen. Obwohl die Auffassung von Mathews eine andre ist, wollen wir hier auf die Richtigkeit dieser Annahme gar nicht eingehen. Morphologisch ganz ähnliche Bilder von aufgeknäuelten Wickeln finden sich [nach Popoffs (07) Angabe] auch in den Leberzellen von *Planorbis* (Textfig. 8).

Textfig. 7.



Pankreaszellen vom Frosch. (Mathews, 99.)

Textfig. 8.



Leberzellen von *Planorbis*. Fix. Subl. 1000 ×. Original.

2. Wir vergleichen diese Strukturen mit den morphologisch völlig gleichen fädigen Gebilden von *Piscicola*, die (Textfig. 9) entweder einen einzigen großen Gitterkorb um den Kern herum bilden können, oder die

Textfig. 9—11.

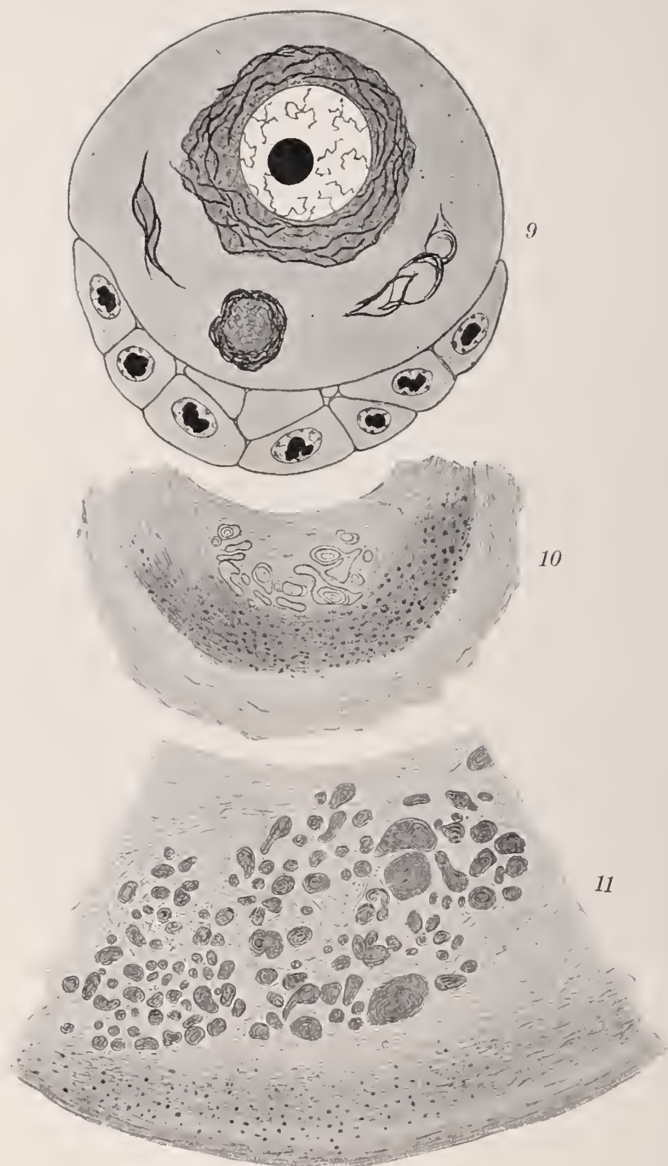


Fig. 9. Gitterkörbchenartige, knäuelförmige und nebenkernartige Niederschlagsmembranen im *Piscicola*-Ei. (Jörgensen, 12.) Fig. 10. Wenig knäuelförmige Assimilationsprodukte des interimistischen Fettes. Fig. 11. Nach Assimilation des Fettes finden sich große Mengen dieser fädigen »Nebenkerne« im Plasma. (Fig. 10 und 11 Ausschnitte des *Proteus*-Eies nach Jörgensen 10.)

die sonst im Plasma unsrer Textfigur abgebildeten »Nebenkerne«, Fadenknäuel usw. aufbauen.

[Der Einfachheit halber wurden alle Strukturen in eine Zelle gezeichnet: siehe meine Arbeit 1912b.]

Diese fädigen Strukturen sind im *Piscicola*-Ei sicherlich keine Chromidien, wie mir auch einige Chromidienforscher zugestanden. Ich habe sie als Niederschlagsmembranen zwischen zwei Plasmaarten und deren aufgeknäuelte Derivate beschrieben.

Beide höchst charakteristische fädige Strukturen gleichen vollkommen

3. den Plasmaeinschlüssen, die ich im *Proteus*-Ei (10) fand: Textfig. 10 u. 11 und die ich als Assimilationsprodukte eines interimistisch gespeicherten Fettes angesprochen habe. In dem Maße, wie dieses Fett verschwindet (Textfig. 10), treten diese fädigen, besser blätterteigartigen Plasmawürste auf (Textfig. 11). Sie wurden von SCHMIDT (04) als Chromidien gedeutet und sind unter dieser Bezeichnung von vielen Chromidienforschern geführt worden. Daß sie nicht aus dem Kern stammen, habe ich auf das sicherste nachgewiesen. Was nun die eigentliche Bedeutung dieser drei so äußerst charakteristischen und dabei doch morphologisch gleichen Strukturen sei, wollen wir hier ganz dahingestellt sein lassen.

Sicher ist, daß es ganz heterogene Gebilde sind, sowohl ihrer Herkunft, als ihrer Bedeutung für die Zelle nach.

1. Die fädigen Strukturen der Amphibienpankreas (Textfig. 7) sollen nach MATHEWS (99) wegen ihrer unmittelbaren Lage am Kern! [1]) Chromatin aufnehmen. Durch Aufknäuelungen und teilweise Homogenisierung bilden sie die »Nebenkerne«. Beide Strukturen werden bei der Ausarbeitung des Secretes verbraucht.

2. Die fädigen, gitterkörbchenartigen Nebenkerne, Knäuel und Wickel der Niederschlagsmembranen (Textfig. 9) sind Begleiterscheinungen der eigenartigen Ernährungsverhältnisse des *Piscicola*-Eies und spielen wahrscheinlich gar keine Rolle.

3. Die aufgeknäuelten Plasmawürste des *Proteus*-Eies (Fig. 10 u. 11) sind Begleitstrukturen einer Fettassimilation; als solche sind sie für das Wachstum des Eies bedeutungslos.

---

[1]) Ich verweise hier auf Taf. XIV und XV meiner Arbeit »Die Ei- und Nährzellen von *Piscicola*«, wo ähnliche fädige, basophile Strukturen noch unmittelbar am Kern liegen, und doch nehmen sie kein »Chromatin« aus diesem auf, denn der Kern hat auf diesem Stadium keins.

Und trotz dieser verschiedenen Herkunft, trotz dieser verschiedenen Bedeutung, weisen alle drei Gebilde die gleichen, doch wirklich charakteristischen Strukturen auf.

Wir dürfen daher gar nicht alle diese plasmatischen Einschlüsse auf ihre morphologische Ähnlichkeit und auf ihre Chromatophilie hin miteinander identifizieren, wie das bisher vielfach getan wurde; denn die heterogensten Gebilde weisen die gleiche morphologische Struktur, die gleiche Affinität zu Kernfarbstoffen auf.

Ich persönlich möchte noch weiter gehen und sagen, wir dürfen noch nicht einmal morphologisch und färberisch ähnliche Gebilde in analogen Organen verschiedener Tiere miteinander identifizieren. Wenn wir wirbelförmig gebaute »Nebenkerne« sowohl in der Pankreas eines Amphibiums, wie in der Leber von *Planorbis* finden, so dürfen wir beide Gebilde nicht als identische vergleichen, wie das die Chromidienforscher gewöhnt sind. Am wahrscheinlichsten ist doch die Annahme, daß: so verschieden das Secret der Pankreaszelle eines fleischfressenden Frosches von der Leberzelle einer detritusfressenden *Planorbis* ist, so verschieden sind auch die betreffenden knäuelartigen Nebenkerne oder sonstigen Ergastoplasmen ihrer Drüsenzellen. Wenn sie die gleiche Struktur aufweisen, so ist das eine Zufälligkeit, wie in den drei oben zitierten Fällen, wenn sie sich basisch färben, so beruht dies auf der Unzulänglichkeit unsrer Chromatinfarben, die z. B. auch die Nucleolen nahe verwandter Tiere gleich chromatisch färben, und dort sind diese Nucleolen völlig verschieden voneinander (Jörgensen 12a).

Wie bei den Nucleolen, so ergeben sich auch sonst große chemische Differenzen bei Strukturen, die nicht nur färberisch und morphologisch, sondern besonders auch physiologisch bis in die feinsten Details vergleichbar sind. Ich will hier nur ein Beispiel heranziehen:

1. Das basophile Prosecret unsrer *Piscicola*-Drüsen.
2. Das basophile Ergastoplasma des *Patella*-Eies.

Vergleichen wir die Fig. 1—9, Taf. XIX, der *Piscicola*-Hautdrüsen mit der Taf. IIIb des *Patella*-Eies, so finden wir morphologisch so ähnliche Strukturen, daß man die eine Zellart durch die andre auswechseln kann.

In beiden findet sich ein homogenes Ergastoplasma.
In beiden färbt sich dieses Ergastoplasma stark chromatisch.
In beiden trägt es durch seine autonome Volumzunahme zum Riesenwachstum der Drüse bzw. des Eies bei.
In beiden wird es bei der Secret- bzw. Dotterbildung verbraucht.

In beiden wurde dieses Ergastoplasma für ein Chromidium erklärt [bei Drüsen von MONTGOMERY (99); bei Eizellen von SCHAXEL (10 u. 11).]

In beiden entsteht das Ergastoplasma in Wirklichkeit im Plasma, morphologisch unabhängig vom Kern.

Und trotz dieser weitgehenden morphologischen und physiologischen Gleichheit, scheinen beide chemisch völlig voneinander verschieden, denn

1. das Prosecret der *Piscicola*-Drüsen ist in Trypsin verdaulich;
2. das Prosecret des *Patella*-Eies bei gleicher Behandlung unverdaulich.

V. Die Lehre vom Chromidialapparat.

Diese Lehre hat auf Grund rein morphologischen Vergleiches fast alle plasmatischen Strukturen der Metazoenzelle wie: den Nebenkern, die verschiedensten Ergastoplasmen, den Dotterkern, die Archoplasmaschleifen, die Pseudochromosome, die Centrophormien, die Mitochondrien, die Trophospongien, den Apparato reticolare u. a. unter einem einheitlichen Gesichtspunkt zusammengefaßt.

1. Alle diese Gebilde sollen dieselbe Herkunft haben, d. h. sie sollen als »Chromidien« aus dem Kern herstammen.

2. Alle diese Gebilde sollen als »trophischer Kern« die Zelle zu ihren jeweiligen specifischen Tätigkeiten, als da ist Riesenwachstum, Dotterbildung, Secretbildung, Muskel-, Nervenfibrillenbildung usw. anregen. »Alle lebhaften Stoffwechselvorgänge sowohl wie formativen Tätigkeiten der Zelle werden eingeleitet durch Austritt von Kernchromatin ins Plasma.«

Es hat sich nun sowohl durch unsre obigen Mitteilungen, wie durch einige Arbeiten der neuesten Zeit herausgestellt, daß die Verallgemeinerung, auf die sich die »Lehre vom Chromidialapparat« aufbaut, irrtümlich ist. Bevor wir auf die neuere Literatur zu sprechen kommen, sei es uns gestattet, einige

A. Allgemeine Gesichtspunkte

zu erwähnen, die bei den Chromidienforschern bisher zu wenig oder gar keine Beachtung gefunden haben.

Die Chromidienlehre nimmt an, daß alle plasmatischen Einschlüsse, die sich mit den sogenannten Chromatinfarben (Boraxcarmin, DELAFIELD,

Safranin usw.) tingieren, auch wirklich Chromatin sind, das aus dem Kern stammt.

1. Das Chromatin ist vor andern Zellbestandteilen ausgezeichnet durch seinen Gehalt an Nucleinsäure (zusammenfassende Berichte von ZACHARIAS 09 und NEMEC 10)[1]). Auf diesen Gehalt an Nucleinsäure wird die »chromatische« Färbung des Chromatins mit Kernfarbstoffen zurückgeführt.

Wenn wir daher mit Chromatinfarben tingierte, plasmatische Gebilde als »Chromatin« ansprechen wollen, so müssen wir versichert sein, daß die Chromatinfarben nur Gebilde, die wirklich Nucleinsäure bzw. Nucleoproteide enthalten, die also wirklich Chromatin sind, färben.

Schon im Jahre 1898 hat aber MATHEWS darauf aufmerksam gemacht, daß z. B. hyaliner Knorpel und Mucin, die nachweislich keine Nucleinsäure enthalten, sich intensiv mit basischen Chromatinfarben tingieren.

Diese Chromatophilie führt MATHEWS auf die Anwesenheit andrer organischer Säuren zurück. Beim Knorpel bedingt z. B. die salzartige Verbindung der Chondroitinschwefelsäure mit starken basischen Eiweißkörpern die intensive »chromatische« Färbbarkeit.

Die basische Chromatin- oder Kernfärbung des Plasmas ist demnach kein Beweis für das Vorhandensein von Chromatin (als dem wichtigsten Nucleoproteid) im Plasma.

Wir müssen vielmehr annehmen, daß überhaupt salzartige Verbindungen von beliebigen organischen Säuren mit stark basischen Eiweißkörpern — die starke Chromatizität (Basizität) des Plasmas bedingen.

Diese Angabe ist von größter Wichtigkeit und ist dementsprechend auch in die Lehrbücher von WILSON (1900 u. 1906, S. 337) und GURWITSCH (04, S. 163) übergegangen. Von den Chromidienforschern wurde sie bisher nicht berücksichtigt! Bei der Aufstellung einer Lehre von so allgemein postulierter Gültigkeit, müssen doch aber auch so gewichtige Einwände abgehandelt und entkräftet werden. Das ist nicht geschehen.

---

[1]) Das Chromatin ist die nucleinsäurehaltige färbbare Substanz des Zellkernes, die mit steigendem Gehalt an Nucleinsäure immer schlechter sich mit sauren Farben in wässeriger Lösung färbt. Es würde aber verfrüht sein, das Chromatin chemisch der Nucleinsäure oder auch nur einem Nuclein gleichzusetzen, denn sicherlich ändert sich die Zusammensetzung des »Chromatins« während des Zellebens fortwährend (FISCHER 99, S. 190).

2. FISCHERS (99) Versuche zeigen, in welch großem Umfange die Farbstoffaffinitäten auf das physikalische Absorptionsvermögen zurückgeführt werden müssen. Wenn man daher die Chromatophilie der verschiedenen Plasmaeinschlüsse als Beweis ihrer specifischen Natur oder zu ihrer chemischen Identifizierung mit Chromatin heranzieht, so ist das ein großer methodologischer Fehler. Schon FISCHER hat klar ausgesprochen, daß die Chromatinfärbung nicht zu mikrochemischer Analyse verwertet werden darf. »Jedes Bröckchen und Klümpchen im Cytoplasma, das kernähnlich gefärbt ist, wird als Chromatin gedeutet. Man wird schließlich zustimmen, daß das Chromatin zur hohlen Phrase herabgesunken ist«[1]).

Dieses Zitat stammt aus dem Jahre 1899!

3. Diesen älteren Autoren schließen sich weitere maßgebende Autoren wie ZACHARIAS (09) und NEMEC (10) in ihren großen zusammenfassenden neuesten Arbeiten an:

So schreibt NEMEC (10):

S. 296: »Ein ganz ungerechtfertigtes Extrem muß z. B. in dem Vorgehen einiger Biologen gesehen werden, welche alles, was sich mit den sogenannten Kernfarbstoffen tingiert, ohne weiteres als Chromatin bezeichnen und mit diesem Namen gleich ganz bestimmte Vorstellungen über die physiologische Funktion der betreffenden Substanzen verbinden.«

S. 298: »Wenn auf Grund von tinktoriellen Übereinstimmungen auf chemische Identität geschlossen wird, so ist das meistens sehr gewagt.«

S. 330. »Man ist daran gewöhnt, Substanzen, die sich gleich tingieren, auch für chemisch übereinstimmend zu betrachten, so ist z. B. der Begriff des Chromatins entstanden. Die mikrochemischen Untersuchungen beweisen, daß dies ganz ungerechtfertigt ist. Nicht einmal das Chromatin der ruhenden Kerne ist stofflich identisch mit der Chromosomensubstanz.«

B. Spezielle Angaben.

Diesen gewichtigen Äußerungen des erfahrenen Mikrochemikers lassen sich einige neuere Beobachtungen auf zoologischem Gebiete anreihen. Ich will hier nicht etwa die ganze Chromidienliteratur besprechen, sondern nur einige Arbeiten neuesten Datums anführen, in denen die

---

[1]) Diese Verflüchtigung des Chromatinbegriffes hat sich auch in der Chromidienlehre bemerkbar gemacht. Die meisten Autoren verstehen unter Chromidien plasmatische Gebilde, die sich basichromatisch färben und für die wegen ihrer Nähe an der Kernmembran ein Austritt aus dem Kern und damit der Chromatincharakter wahrscheinlich gemacht werden kann. Bei einigen Autoren hat sich aber dieser Begriff verflüchtigt. Den Höhepunkt dieser Verflüchtigung bezeichnet die MOROFFsche Vorstellung, der sogar »farblose« also unsichtbare Chromidien! annimmt.

bisherigen Angaben über dieses Problem schon eine kritische Besprechung erfahren haben.

1. Jörgensen (10) hat bei *Proteus* nachgewiesen, daß der basichromatische Dotterkern des Eies nicht etwa — wie das manche Forscher behaupten und wie das auch die Lehre vom Chromidialapparat postuliert — ausgetretenes Chromatin ist, sondern ein Konglomerat der verschiedensten Plasmaeinschlüsse (Mitochondrien; Fett; unbekannte, noch nicht faßbare Stoffe, darunter auch aus dem Kern ausgetretenes Chromatin). Dieses degeneriert aber zu Fett. Die postulierte Funktion des Dotterkernes als eines dem Riesenwachstum des Eies vorstehenden trophischen Kernes wurde zurückgewiesen. Der Dotterkern hat beim *Proteus*-Ei nichts mit dem Riesenwachstum zu tun.

Ein Chromidialapparat, der das Eiwachstum sonst etwa bedingen könnte, wurde weder bei *Proteus* noch bei zahlreichen andern Objekten (Jörgensen 12 a) nachgewiesen.

Weiterhin fanden sich bei *Proteus* die schon erwähnten blätterteigartigen Plasmaknäuel und Wickel (Textfig. 10 u. 11), deren chromidiale Natur (Schmidt 04) widerlegt wurde.

2. Lundegårdh (1910) wies im Plasma band-, wurm-, wurst-, bläschen- oder fadenförmige Gebilde nach, die oft längsgespalten waren, die Nähe des Kernes bevorzugten und sich selbständig vermehrten. Sie glichen völlig den Pseudochromosomen, Chromidien, Chondriokonten usw.

Von Fischer (1906) waren sie als aus dem Kern ausgetretenes Chromatin, von Meves als mitochondriale Vererbungsträger angesprochen worden. Beides ist falsch.

Sie sind nach Lundegårdhs Annahme durch die Fixierung artifiziell veränderte (systrophische) Leucoplasten oder Stärkebildner von rein plasmatischem Ursprung. — Auch Lundegårdh findet, daß die Begriffe Chromidien und Mitochondrien in ihrer jetzigen Fassung unhaltbar sind und daß sie physiologisch sehr verschiedenartige Dinge ohne Berechtigung zu einem Begriff zusammenfassen.

3. Duesberg (10) sucht zu beweisen, daß die Angaben von Wassilieff (06), Popoff (07), Buchner (09), die bei Samen- und Eizellen einen Chromatinaustritt beschrieben haben, falsch sind. Diesen Beweis führt er teils durch Nachuntersuchung, teils dadurch, daß er die Angaben dieser Autoren auf ihre mangelhafte Fixierungs- und Färbetechnik zurückführt.

Die Schilderungen der betreffenden Autoren seien nur ganz lückenhafte Beschreibungen der in Wirklichkeit dauernd vorhandenen Chondrio-

some, die nach Benda, Meves, Giglio-Tos et Granata, Wilke, Girard, Dingler und Duesberg rein cytoplasmatischer Natur sind. Die Chondriosome entstehen niemals durch Abgabe von Chromatin aus dem Kern, sondern sind ein integrierender Bestandteil des Zellprotoplasmas. «Tout chondriosome provient d'un chondriosome antérieur.« Hier möchte ich nur darauf aufmerksam machen, daß ja beide Gebilde gleichzeitig vorhanden sein können, sowohl Mitochondrien, wie Chromidien, wie ich das z. B. beim *Proteus*-Bukettstadium nachgewiesen habe.

Außerdem muß betont werden, daß die Mitochondrienfärbung keineswegs eine specifische Färbung ist, sondern die heterogensten Dinge in gleicher Weise darstellt, wie ich das schon früher (10, bei *Proteus*) und neuerdings auch Lundegårdh (10) und von Kemnitz (11) angegeben haben.

4. von Kemnitz (11) hat ganz neuerdings nachgewiesen, daß bei *Ascaris* die als »Chromidien« beschriebenen Gebilde mit dem intermediären Stoffwechsel zusammenhängen.

5. Ferner verweise ich auf unsre obigen Ausführungen, die

a) einmal an einem speziellen Objekt, den Hautdrüsen von *Piscicola*, den von Montgòmery (99) geschilderten extremen Chromatin-(Nucleolen)austritt widerlegten;

b) die großen methodologischen Fehlerquellen, die der Lehre vom Chromidialapparat drohen, beleuchten und die zeigen, daß — nach den wenigen oben angeführten Arbeiten — ganz heterogene Dinge als Chromidien angesprochen wurden, nämlich:

1. Der Dotterkern im *Proteus*-Ei (Jörgensen 10);
2. Plasmawickel, die bei der Fettresorption auftreten (Jörgensen 10);
3. Leucoplasten (Stärkebildner) (Lundegårdh 10);
4. Chondriosome rein plasmatischer Natur (Duesberg 10);
5. basophiles Ergastoplasma in Eizellen (Jörgensen 12a);
6. basophiles Ergastoplasma in Drüsenzellen von *Piscicola* (Prosecret).

Wenn es daher auch in neuester Zeit nicht an Angaben gefehlt hat, die immer wieder Chromatinaustritt (= Chromidienbildung) beschreiben zu können glaubten [ich erinnere nur an die Arbeiten von Ehrhard (10), Popoff (10), Schaxel (10, 11), Isakowitsch (10), Günthert (10) u. a.], so gebe ich diesen Autoren gern zu, daß die von ihnen beschriebenen chromatophilen Plasmaeinschlüsse in der Tat existieren. Daß sie aber aus dem Kern ausgetretenes Chromatin sind, haben diese Autoren nicht bewiesen, denn eine Lagerung an der Kernmembran ist nicht zu identi-

fizieren mit einer Chromatinabgabe von Seiten des Kernes. Ich verweise hier nur auf die Niederschlagsmembranen im *Piscicola*-Ei, die sich der Kernmembran dicht anlegen können und wundervolle Austritte von Chromidien vortäuschen.

Außerdem haben aber alle diese Autoren nur mit den primitiven Kernfarben gearbeitet, weshalb sie gar keine Schlüsse auf die wirkliche Natur der von ihnen beschriebenen basophilen Körper ziehen dürfen.

Literaturverzeichnis.

BUCHNER, P. (1909.) Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

DUESBERG, J. (1910.) Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

EHRHARD, H. (1910.) Studien über »Trophospongien«. Festschr. f. R. HERTWIG. 1910. Bd. I.

FISCHER, A. (1899.) Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Fischer, Jena.

GOLDSCHMIDT, R. (1904.) Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXI.

—— (1905.) Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung von Zoogonus mirus. Ebenda.

—— (1909.) Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris, nebst Bemerkungen über den Chromidialapparat. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

GÜNTHERT, TH. (1910.) Die Eibildung der Dytisciden. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXX.

GURWITSCH, A. (1904.) Morphologie und Biologie der Zelle. Fischer, Jena.

HEIDENHAIN, M. (1907.) Plasma und Zelle. I. Fischer, Jena.

HERTWIG, O. (1909.) Allgemeine Biologie. 3. Aufl.

HERTWIG, R. (1899.) Encystierung und Kernvermehrung bei Arcella. Festschrift für KUPFFER.

—— (1904.) Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium Eichhorni usw. Festschr. f. E. HÄCKEL, Jena.

JÖRGENSEN, M. (1910 a.) Beiträge zur Kenntnis der Eibildung usw. bei Schwämmen (Sykonen). Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

—— (1910 b.) Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von Proteus anguineus. Festschr. f. R. HERTWIG. Bd. I.

—— (1912 a.) Morphologische Beiträge zum Problem des Eiwachstums.

—— (1912 b.) Die Ei- und Nährzellen von Piscicola.

KEMNITZ, G. A. v. (1912.) Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

LUNDEGÅRDH, H. (1910.) Ein Beitrag zur Kritik zweier Vererbungshypothesen. Über Protoplasmastrukturen in den Wurzelmeristemzellen von Vicia Faba. Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. XLVIII.

Mathews, A. P. (1898.) A Contribution to the Chemistry of Cytological Staining. Am. Journ. Phys. I.

Mathews, A. M. (1899.) The change in structure of the pancreas cell. Journ. of Morph. Vol. XV. Suppl.

Moroff, Th. (1909.) Oogenetische Studien. I. Marine Copepoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

Nemec, B. (1910.) Das Problem der Befruchtungsvorgänge usw. Bornträger, Berlin.

Popoff, M. (1906.) Zur Frage der Homologisierung des Binnennetzes der Ganglienzellen mit den Chromidien (= Mitochondria) der Geschlechtszellen. Anat. Anz. Bd. XXIX.

—— (1907.) Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

—— (1910.) Ein Beitrag zur Chromidialfrage. Untersuchungen an Musciden. Festschrift f. R. Hertwig. Bd. I. 1910.

Rückert, J. (1892.) Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies der Selachier. Anat. Anz. Bd. VII.

Schaxel, J. (1909.) Die Morphologie des Eiwachstums und der Follikelbildungen bei Ascidien. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

—— (1910.) Die Eibildung der Meduse Pelagia noctiluca. Festschr. f. R. Hertwig. Bd. I. Fischer, Jena.

—— (1910). Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung usw. der Echinodermen. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXXV.

Schmidt, V. (1904.) Studien über Ovogenese. I. Die Wachstumsperiode der Eier von Proteus anguineus. Anat. Hefte. Bd. XXVII.

Tischler, G. (1906.) Über die Entwicklung des Pollens und der Tapetenzellen bei Ribeshybriden. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII.

Wassilieff, A. (1907.) Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXX.

Wilson, E. B. (1900 u. 1906.) The cell in development and inheritance. London, Macmillan u. Comp.

Zacharias, E. (1910.) Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma u. Zellkern. Progress. rei botanicae. Bd. III.

Tafelerklärung.

Fixierung: Sublimat. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Fig. 17—21, Taf. XIX, Jodgrün-Fuchsin. Vergrößerung 700 ×. Figuren auf Objekttischhöhe gezeichnet.

Tafel XIX.

Normaldrüsen.

(Fig. 1—16).

A. Prophase (Fig. 3—9; Tiere fixiert im Moment der Kokonbildung) am 20. März.

Fig. 1. Drüsenzelle eines jungen 10 mm langen, noch nicht geschlechtsreifen Tieres vom 7. April.

Fig. 2. Drüsenzelle eines mittelgroßen, noch nicht geschlechtsreifen Tieres vom 7. April.

Fig. 3—5. Drüsenzellen mit homogenem Prosecret und steigender Menge von definitiven Secretgranula. (20. März.)

Fig. 6. Drüsenzelle mit radiär angeordnetem Plasma (Fixationsstrahlung). Statt der Granula findet sich eine entsprechende gefärbte Flüssigkeit vor. (20. März.)

Fig. 7—9. Drüsenzellen mit strangförmigem Prosecret und reichlichen Mengen von Secretgranula, die in Fig. 7 und 9 nicht gezeichnet sind. Der Kern ist enorm gewachsen. (20. März.)

B. Metaphase (Fig. 10—14; Tiere vom 7. April auf der Höhe der Laichzeit).

Fig. 10. Drüsenzelle mit wenigen Prosecretresten. Der Kern nimmt ab.

Fig. 11. Drüsenzelle ganz mit basischen Secretgranula gefüllt. Prosecret völlig verschwunden. Abgekürzter Secretionsmodus. Kern noch mehr geschwunden.

Fig. 12—14. Allmähliche Austreibung des Secretes. Chromatische Rekonstruktion des Kernes.

Fig. 15 u. 16. Drüsenzellen mit Prosecretsträngen. Der Kern zeigt nur wenige vacuolige Chromatinbrocken.

I. Hungerversuch

(von 14 Tagen Dauer). Fig. 17—27.

A. Zimmermann-Präparate.

Fig. 17 u. 18. Maximal gehungerte Drüsen mit den letzten Prosecretresten und stark reduzierten Kernen.

Fig. 19—21. Größere Drüsenzellen mit strangförmigen und brockigen Prosecretresten.

B. Safranin-Lichtgrünpräparate.

Fig. 22 u. 23. Maximal erschöpfte Drüsen.

Fig. 24—27. Die strangförmigen Reste des Prosecretes. Plasmastruktur gut sichtbar.

Tafel XX.

II. Hungerversuch

(von 4 Wochen Dauer; darauf Fütterung). Fig. 1—7.

Fig. 1 u. 2. Maximal gehungerte Drüsen. $24^{h.}$ nach dem Ansetzen auf den Karpfen.

Fig. 3 u. 4. Maximal gehungerte Drüsen. $48^{h.}$ nach dem Ansetzen auf den Karpfen (mit reichlicher Prosecretbildung).

Fig. 5 u. 6. Maximal gehungerte Drüsen. $48^{h.}$ nach dem Ansetzen auf den Karpfen (mit Prosecret und Drüsengranula).

Fig. 7. Maximal gehungerte Drüsen. $72^{h.}$ nach dem Ansetzen auf den Karpfen. (Zelle voll von Granula; Prosecret verbraucht.)

Normaldrüsen.
(Fig. 8 u. 9.)

Fig. 8. Drüse mit grobscholligem Prosecret.
Fig. 9. Anschnitt einer Normaldrüse mit in Längsreihen angeordnetem Prosecret.

Verdauungsversuche.
(Fig. 10—13.)

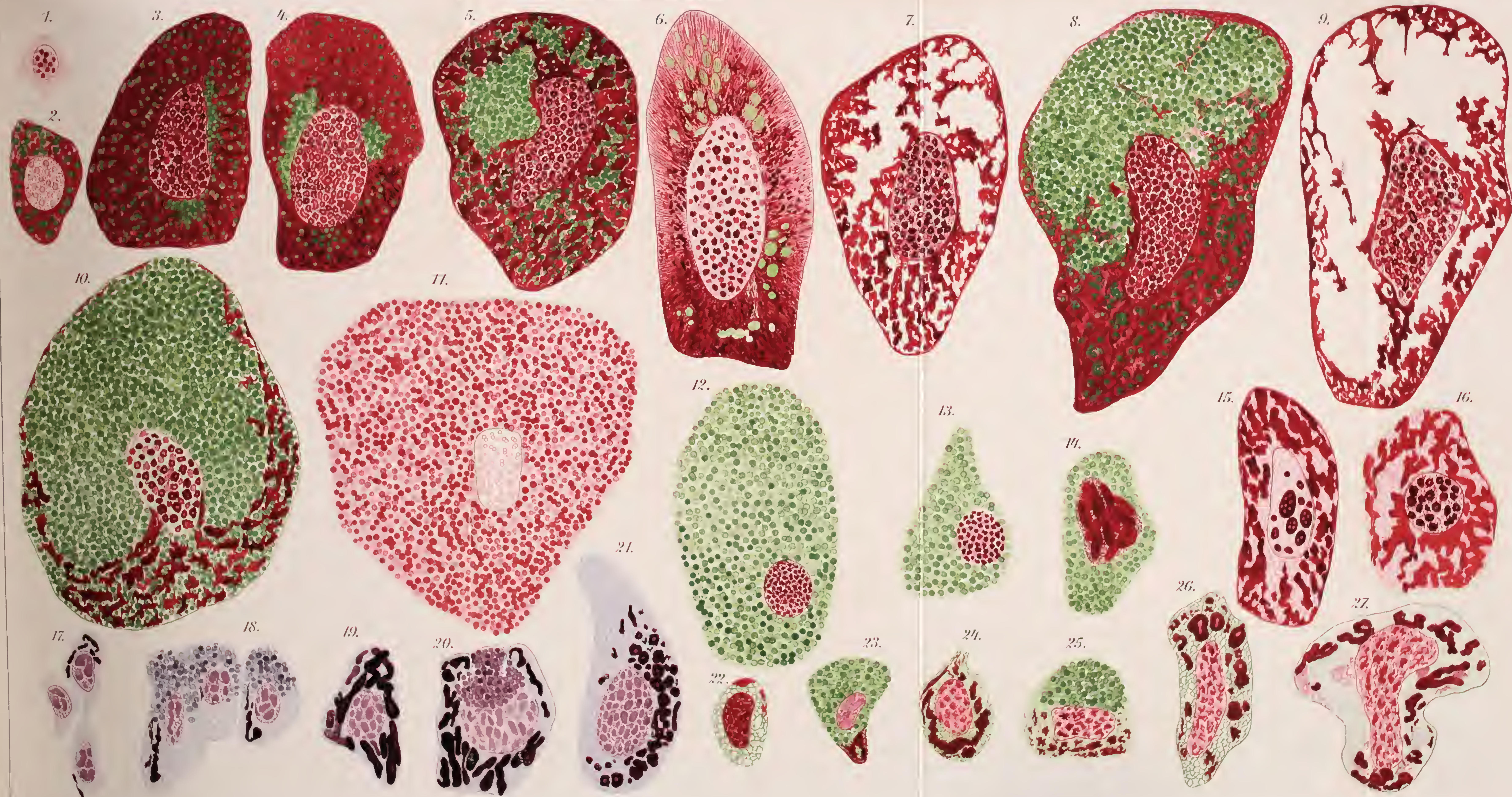
Fixierung: Alcohol absol. Färbung: Delafield-Eosin.

Fig. 10. Normaldrüse mit Prosecret.

Fig. 11 u. 12. Normaldrüse nach $1^{h.}$ Trypsinverdauung. Das Prosecret ist gelöst. Der Kern völlig intakt.

Fig. 13. Normaldrüse nach $^{1}/_{2}{}^{h.}$ Pepsinverdauung. Prosecret und Kern unverdaut.





Wilhelm Engelmann



Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig
Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

Chromatinreifung und Mitochondrienkörper in der Spermatogenese von Hydrometra paludum Fabr.

Von

Dr. G. Wilke,
Düsseldorf.

Mit 7 Textfiguren und Tafel XXI—XXII.

Inhalt.

A. Material und Methoden.

Das zur Untersuchung benutzte Material stammt aus Teichen in der Umgebung von Jena.

Die Hoden wurden nach der Herausnahme aus dem Körper mit dem starken Flemmingschen Gemisch fixiert, in dem sie 12—24 Stunden blieben. Meistens habe ich mit Heidenhains Eisenhämatoyxlin gefärbt, wobei nach dem einstimmigen Urteil der Autoren die Mitochondrien sehr klar zur Erscheinung kommen. Nur muß bei dieser Methode darauf geachtet werden, daß der Farbstoff genügend ausgezogen wird, da sonst wesentliche Strukturen der Chromosomen, Tetraden, Mitochondrien usw. verdeckt bleiben können, was zu Irrtümern Veranlassung geben kann. Zum Nachweise von Chromatin habe ich hauptsächlich Hämatoxylin nach Delafield benutzt. Mit Alauncarmin in Verbindung mit Bleu de Lyon habe ich weniger gute Resultate erhalten. Da das Plasma durch die Einwirkung der Osmiumsäure einen schönen bräunlichen Ton bekommt, habe ich in den Fällen, in denen die Eisenhämatoxylinmethode angewandt wurde, auf besondere Plasmafärbung verzichtet.

Die Dicke der Schnitte war verschieden; sie schwankte zwischen 3 und 6 μ. Am geeignetsten erwiesen sich Schnitte von 4 oder 5 μ Dicke.

Die Zeichnungen sind bei 1300facher Vergrößerung (Leitz, 1/12 hom. Imm. in Verbindung mit Ocular V) frei nach dem Objekt angefertigt worden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Direktor des hiesigen Instituts für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie, Herrn Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Lubarsch, für die Bereitwilligkeit zu danken, mit der er mir die technischen Hilfsmittel seines Instituts zur Verfügung stellte. Hierdurch ist es mir möglich geworden, die vorliegenden Untersuchungen zu Ende zu bringen.

B. Einleitung.

Die Hemipteren sind diejenige Ordnung der Insekten, innerhalb welcher sich hinsichtlich der Samenreife die größten Verschiedenheiten ergeben haben. Es ist bis heute noch nicht gelungen, für diese Ordnung ein einigermaßen einheitliches Bild der Spermatogenese aufzustellen. Im Gegenteil, je mehr die Zahl der Untersuchungen wächst, desto größere Abweichungen ergeben sich.

Die Hemipterenspermatogenese zeigt Unregelmäßigkeiten und Abweichungen vom Typischen in jeder Phase. Gemäß der Bedeutung,

welche den Chromosomen als Vererbungsträgern zukommt, sollte man doch annehmen, daß die Zahl derselben bei den Vertretern derselben Ordnung nahezu konstant sei. Statt dessen bieten sich die größten Schwankungen der Chromosomenzahlen dar. Als niedrigste Normalzahl ist bis jetzt die Zahl 11 gefunden worden bei *Hydrometra lacustris* (Wilke, 1907), als höchste die Zahl 34 bei *Poecilograpsus gonipherus* (Montgomery, 1906). Fast alle Zahlen zwischen diesen Extremen sind vertreten:

12 bei *Eurygaster alternatus* (Montg. 1906);
13 bei *Harmostes reflexulus* (Montg. 1906), *Corizus alternatus* (Montg. 1906), *Corizus lateralis* (Montg. 1906), *Alydus pilosulus* (Montg. 1906), *Alydus eurinus* (Montg. 1906), *Oedoncala dorsalis* (Montg. 1906);
14 bei *Lygaeus turcicus* (Wilson 1906), *Brachymena* (Wilson 1906), *Trichopepla* (Wilson 1906), *Peribalus limbolaris* (Montg. 1906), *Peliopelta abbreviata* (Montg. 1906);
16 bei *Oneopeltes fasciatus* (Montg. 1906), *Ichnodemus falicus* (Montg. 1906);
21 bei *Anasa tristis* (Wilson 1905, 1907; Montg. 1906), *Anasa* sp. (Montg. 1906), *Anasa armigera* (Montg. 1906), *Hygotrechus* sp. (Montg. 1906), *Limnotrechus marginatus* (Montg. 1906);
22 bei *Syromastes marginatus* (Gross 1904);
24 bei *Zaitha* sp. (Montg. 1906), *Pyrrhocoris apterus* (Henking 1891; Gross 1906);
25 bei *Chariesterus antennator* (Montg. 1906);
26 bei *Prionidus cristatus* (Montg. 1906);
30 bei *Calocoris rapidus* (Montg. 1906);
32 bei *Acholla multispinosa* (Montg. 1906), *Sinea diadema* (Montg. 1906);
33 bei *Ligus pratensis* (Montg. 1906).

Selbst die Normalzahl für dieselbe Art scheint nicht immer konstant zu sein; sie wird für *Euschistus* sp. von Montgomery (1910) als schwankend in den Spermatogonien zwischen 13, 14 und 15 angegeben. In den Spermatocyten erster Ordnung schwankt die Zahl der Chromatinelemente zwischen 8, 9, 10 und 11, in den Spermatocyten zweiter Ordnung zwischen 6, 7, 8 und 9. Wilson (1905) fand bei *Lygaeus turcicus* neben 8 bisweilen 9 Elemente. Welche Schwierigkeit allein schon die Feststellung der Normalzahl bereitet, zeigt der zwischen Montgomery (1901, 1906) und Wilson (1905) um *Nezara hilaris* Say geführte Streit. Noch deutlicher tritt dies in dem Kampfe um ein Chromosom in der Normalzahl

bei *Anasa tristis* zutage, an dem nicht weniger als fünf Autoren [Paulmier (1899), Wilson (1905, 1907), Montgomery (1906), Foot und Strobell (1907)] teilnahmen, und der nun endlich zu Wilsons Gunsten entschieden ist.

Auch während der Synapsis verhalten sich die einzelnen Arten sehr verschieden. Bei einigen wird ein Spirem angetroffen, so bei *Syromastes marginatus* (Gross 1904) und *Hydrometra lacustris* (Wilke 1907). Für *Pyrrhocoris apterus* (Gross 1906) konnten sogar zwei Synapsisstadien festgestellt werden. *Hydrometra paludum* hat sicher kein Spiremstadium.

Bei der Deutung der Bilder von der Tetradenbildung variieren die Ansichten der Autoren naturgemäß auch sehr, nicht bloß innerhalb der Ordnung, sondern sogar bei demselben Objekt. Als Beispiel sei *Pyrrhocoris apterus* angeführt (Henking 1891, Gross 1906); nach dem ersten Autor verläuft die Spermatogenese nach dem Prä-, nach dem zweiten nach dem Postreduktionsmodus.

Das Gesetz, gemäß dem die Tetraden in den Spermatocyten erster Ordnung in der halben Normalzahl auftreten, hat in seiner strengen Form für keinen Vertreter der Hemipteren Gültigkeit. Zwar findet Gross (1906) bei *Pyrrhocoris apterus* die halbe Normalzahl Chromatinelemente, aber eines derselben ist nicht eine Tetrade sondern ein zweiwertiger Chromatinnucleolus. Dieser Fall, ebenso der von *Syromastes marginatus* (Gross 1904), gehört dahin, daß die Zahl der Tetraden unter die halbe Normalzahl sinkt. Die entgegengesetzte Möglichkeit, das Steigen über die halbe Normalzahl, wurde von Montgomery (1906) an 40 Species beobachtet. Diese Abweichungen vom Gesetze rühren daher, daß entweder nicht alle Chromosomen sich an der Konjugation während der Wachstumsperiode beteiligen, oder daher, daß sich einige nach erfolgter, aber nur kurz dauernder Konjugation wieder trennen, worauf sich dann jedes noch einmal teilt. In allen diesen Fällen enthalten die Spermatogonien auffallend kleine Chromosomen, welche sich später abnorm verhalten. Solche Chromosomen weisen hauptsächlich die von den amerikanischen Autoren untersuchten Species auf. Sie werden unterschieden als Idiochromosomen und Mikrochromosomen (Wilson) oder Diplosomen und Monosom (Montgomery) und gehören wohl zu denjenigen Sonderchromosomen, von denen Goldschmidt (1904) und Fick (1906) annehmen, daß sie für den Stoffwechsel und nicht für die Vererbung, Bedeutung haben.

Auch der Fall, daß die Tetraden in der vollen Normalzahl auftreten, ist bei *Hydrometra lacustris* (Wilke 1907) beobachtet worden.

Mit der Tetradenbildung ist die Reduktionsfrage eng verbunden, welche auch bei demselben Objekt schon zu Differenzen geführt hat. Schon 1898 hatte PAULMIER aus der nicht allzu eingehenden Beobachtung einzelner Arten den Schluß gezogen, daß die Spermatogenese der heteropteren Hemipteren nach dem KORSCHELTschen Reduktionsmodus verliefe. Er stützte sich dabei auf das Auftreten von Längsspalten an Chromatinsegmenten. Diese Meinung erwies sich später als irrig (GROSS 1906). Der Fall zeigt übrigens, daß die Hemipteren ungeeignete Objekte zu allgemeinen Schlußfolgerungen sind. Nach unserer heutigen Kenntnis sind beide Reduktionsmodi verbreitet, wenn auch von den Autoren die Präreduktion häufiger postuliert wird. In zahlreichen Fällen, das gilt namentlich für die amerikanischen Species, herrscht gemischte Reduktion, nämlich dann, wenn außer den normalen Chromosomen noch Heterochromosomen vorhanden sind. Diese können entweder in der ersten Reifungsteilung Reduktion und in der zweiten Äquation erfahren (ein Teil der Diplosomen MONTGOMERYS und die Mikrochromosomen WILSONS) oder in der ersten Äquation und in der zweiten Reduktion (Idiochromosomen WILSONS, ein Teil der Diplosomen und das Monosom MONTGOMERYS). Die Spermatogenese verläuft dann so, daß in jeder der beiden Reifungsteilungen sowohl Reduktions- als auch Äquationsteilung vorkommt.

Das accessorische Chromosom, dessen Entdeckung bei *Pyrrhocoris apterus* durch HENKING (1891) geschah, tritt bei einer Anzahl Species auf, so bei *Anasa tristis*, *Syromastes marginatus* u. a. m.

Wegen der vielen Arten von Heterochromosomen[1]) (Idiochromosom, Mikrochromosom, Diplosom, Monosom, accessorisches Chromosom, minute

[1]) Diese Heterochromosomen lassen sich folgendermaßen charakterisieren, wobei jedoch zu bemerken ist, daß bei einzelnen Species auch Ausnahmen vom charakteristischen Verhalten festgestellt sind.

Idiochromosomen (WILSON). Sie sind in den Spermatogonien von ungleicher Größe und paaren sich meistens während der Synapsis. In der Prophase der ersten Reifungsteilung sind sie getrennt und treten getrennt in die erste Reifungsteilung ein, welche für sie eine Äquationsteilung ist. Nach dieser vereinigen sie sich zu einer unsymmetrischen Dyade, welche durch die zweite Reifungsteilung in ihre Komponenten zerlegt wird. Diese Teilung ist für sie also eine Reduktionsteilung.

Mikro(= m)chromosomen (WILSON). Sie sind von geringer Größe und treten in der Spermatogonie als symmetrisches (d. h. gleich großes) Paar auf. Vor der ersten Reifungsteilung vereinigen sie sich zu einem zweiwertigen Körper und werden getrennt, ohne verschmolzen zu sein. In der zweiten Reifungsteilung werden sie wieder geteilt.

Diplosomen (MONTGOMERY). Sie konjugieren in der Wachstumsperiode, jedoch nicht immer. Vielfach findet nach erfolgter Konjugation wieder Trennung und dann Teilung statt. Entweder werden sie in der ersten oder in der zweiten Reifungsteilung reduktionell geteilt.

chromosomes) gibt es bei vielen Arten mehrere Sorten Spermatozoen. Es sei nur angeführt *Banasa calva* mit vier Sorten, nämlich: mit 1 großen Idiochromosom und 1 accessorischen Chromosom, mit 1 kleinen Idiochromosom und 1 accessorischen, mit 1 großen Idiochromosom und ohne accessorisches, mit 1 kleinen Idiochromosom und ohne accessorisches Chromosom. Das Auftreten der Heterochromosomen hat zu ausgedehnten Erörterungen und Theorien Veranlassung gegeben. Welcher Wert diesen Spekulationen jedoch beizulegen ist, hat Gross (1912) in klarer Weise gezeigt.

C. Beschreibender Teil.

I. Die Chromatinreifung.

1. Spermatogonien. — Der Kern der jüngsten Spermatogonien, welche bald an dieser, bald an jener Stelle in den Hoden angetroffen werden, nimmt fast die ganze Zelle ein; er läßt nur einen schmalen Streifen Plasma frei (Fig. 1). Im Innern wird er von einem feinmaschigen Lininnetz durchzogen, welches sich stets in einigem Abstande von der Wand des Kernes hält, so daß es von einer hellen Zone umgeben erscheint. An denjenigen Stellen, wo die Fäden des Netzes zusammenstoßen, liegen dunkler gefärbte Chromatinbröckchen. Außer diesen ist, auch in den allerjüngsten Spermatogonien, noch ein größerer Chromatinblock vorhanden. In ihm sammelt sich das Chromatin, wodurch er an Größe zunimmt. In demselben Maße, in dem das geschieht, erweitern sich die Maschen des Lininnetzes, bis endlich nur noch einzelne, schwach dunkel gefärbte Balken den Kern durchziehen (Fig. 2). Wenn die Spermatogonie sich soweit entwickelt hat, taucht noch ein Chromatingebilde

---

Monosom (Montgomery). Für diese Chromosomenart ist die erste Reifungsteilung eine Äquationsteilung. Es geht in der zweiten Reifungsteilung ungeteilt in eine der Spermatiden über.

Accessorisches Chromosom (Wilson). Es teilt sich entweder in der ersten oder in der zweiten Reifungsteilung und geht im ersten Falle ungeteilt in eine der Spermatiden über. Wilson leitet dieses Chromosom aus den Idiochromosomen durch Verschwinden eines derselben ab. Gross (1912) ist entgegengesetzter Meinung.

Minute chromosomes (Montgomery). Sie werden neben den Idiochromosomen zu der »Allosomes« gezählt und früher »supernumerary chromosomes« genannt. Sie gleichen den Mikrochromosomen Wilsons, unterscheiden sich von diesen aber insofern, als sie sich in den Reifungsteilungen nicht teilen. Montgomery faßt sie als degenerierende Idiochromosomen auf.

Diese Unterscheidung der Heterochromosomen geschah nach numerischen oder Größenverhältnissen. Gross (1912) charakterisiert sie durch verschiedene Grade der Aktivität bzw. Passivität, mit der sie an der Spermatogenese teilnehmen. Diese Unterscheidung ist sehr einleuchtend.

im Kern auf. Es ist ein zackig begrenztes, kleines Chromatinklümpchen (Fig. 2), das dem größeren durchaus ähnlich ist und sich meistens in seiner Nähe aufhält. Auf dem folgenden Stadium (Fig. 3) hat sich der Kern ganz aufgehellt, sodaß von dem Netzwerk nichts mehr zu erkennen ist. Dieses Stadium wird häufig angetroffen. Daneben aber noch ein andres (Fig. 4), nicht so häufiges, dem ich aber große Bedeutung zuschreibe. Hier sieht man nämlich an Stelle des einen Klümpchens zwei. Wie eine Vergleichung dieses Stadiums mit dem in Fig. 3 abgebildeten ergibt, sind die zwei Chromatinklümpchen stets kleiner als das eine.

Die Form des Randes des großen Chromatinblockes scheint anzudeuten, daß er mehrwertig ist; in ihm liegen die Chromosomen dicht zusammengedrängt, meistens verklumpt. Ich werde den großen Block daher in Zukunft als Chromosomenballen bezeichnen. Die Berechtigung zu dieser Bezeichnung gibt Fig. 5, in dem man die einzelnen Chromosomen an den Rundungen, sogar der Größe nach, erkennen kann. Derartige Ballen stellen den Zustand der weitesten Lockerung der Chromosomen dar. Eine völlige Isolierung der einzelnen Chromosomen habe ich in keiner einzigen Spermatogonie entdecken können. Ich glaube auch nicht, daß eine solche stattfindet. Infolge dieses Umstandes ist es auch leider nicht möglich, die Zahl der Chromosomen festzustellen. Sie kann aus den günstigsten Stadien nur geschätzt werden, und ich habe die sichere Überzeugung gewonnen, daß in dem Chromosomenballen nicht weniger als 10, im höchsten Falle aber 15 Chromosomen enthalten sein können. Erwähnt sei noch, daß alle beobachteten Kerne von einer deutlich sichtbaren Membran umgeben sind.

2. Vermehrungsteilung. — Nach Erreichung dieser Auflockerung der Chromosomen setzen die Vermehrungsteilungen ein.

a) Verhalten des Chromosomenballens. — In den meisten Spermatogonienkernen bleibt die Verklumpung der Chromosomen bestehen, auch während des Auseinanderrückens derselben in die Tochterzellen (Fig. 6). In manchen Teilungsfiguren sind Fäden zwischen den sich trennenden Chromosomen gut ausgebildet (Fig. 7). Dieses Stadium beweist auch, daß die Chromosomenindividualität vorhanden ist. Die Vergleichung vieler derartiger Teilungen erweckt den Eindruck, daß die Fäden größere und kleinere Chromatinelemente verbinden, daß also Größenunterschiede zwischen den einzelnen Chromosomen vorhanden sind, eine Meinung, welche durch die Fig. 13 bestätigt wird. Nur in einzelnen Fällen habe ich Spindelfasern beobachtet (Fig. 7); Centriolen sind nicht gesehen worden; sie scheinen sehr klein zu sein. Eine Eigentümlichkeit scheint mir noch wert, bemerkt zu werden. Sie ist aus den

Fig. 8 und 9 ersichtlich. Obgleich nämlich eine Teilung der verklumpten Chromosomen schon stattgefunden hat, ist weder von einer Auflösung der Kernmembran noch von einer Einschnürung des Zellkörpers etwas zu bemerken. Gerade in diesen Zellen sind die Fäden zwischen den Chromatinballen gut ausgebildet. In ganz vereinzelten Zellen ziehen sich die Chromosomen soweit auseinander, daß ein Unterscheiden derselben der Größe nach möglich wird (Fig. 13). Man sieht in beiden Tochterzellen rechts kleine Chromosomen neben besonders dicken liegen. Fig. 14 zeigt noch die späte Anaphase und die Regeneration der Kernmembran. Es gibt aber auch schon abgeschnürte Tochterzellen, in denen die Kernmembran noch vollständig fehlt (Fig. 15, 16).

b) Verhalten des Chromatinklümpchens (Entstehen der Spermatogonientetrade). — Es ist eine besondere Eigentümlichkeit der Spermatogonien bei *Hydrometra paludum*, daß nicht alles Chromatin sich in dem Ballen sammelt. Abseits von diesem sahen wir immer noch ein oder zwei Klümpchen (Fig. 2, 3, 4, 5). Die zwei Klümpchen waren nur auf einem Stadium mittlerer Größe des Chromosomenballens anwesend (Fig. 4). Hat dieser das Maximum seiner Größe erreicht, dann ist immer nur eins da (Fig. 5). Während des Wachstums der Spermatogonie hat das Klümpchen immer eine zackige Begrenzung, was wohl auf sein eignes Wachstum schließen läßt. Eine Änderung dieser Form tritt aber während der Vermehrungsteilung ein. In ganz seltenen Fällen kann es allerdings auch während dieser diese Gestalt noch zeigen (Fig. 6), aber durchweg sieht es anders aus. Häufig zeigt es eine Ringform (Fig. 7), die nicht immer überall gleich dick ist und deren Begrenzung meistens uneben ist. Ebenso häufig bietet es sich als Gebilde dar, das wie eine Vierergruppe aussieht (Fig. 8, 9, 10, 11, 12). Dabei können die vier Elemente derselben untereinander in Zusammenhang sein (Fig. 8, 10) und die Mitte frei lassen, oder alle vier sind getrennt (Fig. 9). Schließlich wird noch die in Fig. 11 abgebildete Weckenform angetroffen.

Wegen der ganz unregelmäßigen Anordnung der Zellen innerhalb der Cysten ist es natürlich sehr schwer, den Werdegang dieses eigentümlichen Gebildes, das ich fernerhin als Spermatogonientetrade bezeichnen werde, mit Sicherheit zu verfolgen. Ich glaube aber, daß ich in folgender Anordnung der Bilder nicht irre. Die Spermatogonientetrade macht eine Entwicklung durch, welche in den Fig. 17—21 dargestellt ist. Sie geht aus von dem Chromatinklümpchen, aus welchem das Stadium der Fig. 17 hervorgeht. Der Ring ist im Umfange etwas größer als das Klümpchen und geht durch Auflockerung aus diesem hervor. Die Auflockerung geht weiter vor sich, wobei natürlich die

Dicke des Ringes abnehmen muß (Fig. 18). Bald nimmt er langgestreckte, ellipsenartige Gestalt an, wobei die Mikrosomen erkennbar werden (Fig. 19). An den beiden spitzen Enden der Ellipse findet nun eine Ansammlung des Chromatins statt (Fig. 20), so daß ein Gebilde, das auf den ersten Blick hin an eine Vierergruppe erinnert, entsteht. Diese Vierergruppe nimmt entweder die in Fig. 21 dargestellte Gestalt oder Weckenform an (Fig. 11).

Auf diesen Gang der Entwicklung der Spermatogonientetrade bin ich erst gekommen, nachdem ich den Verlauf der Tetradenbildung in den Spermatocyten festgelegt hatte. Beide Entwicklungen haben auffallende Ähnlichkeit miteinander und stimmen in allen Phasen überein.

c) Die Spermatogonientetrade während der Vermehrungsteilung. — Sie liegt bei Einschnürung der Spermatogonie entweder vollständig in einer Tochterzelle (Fig. 6, 7, 11) oder zwischen beiden Chromosomenballen (Fig. 10), genau auf der Durchschnürungslinie. Am häufigsten wird die erste Lage angetroffen. Auch wenn bei eingetretener Trennung der Chromosomen der Zellkörper noch keine Teilungsanzeichen erkennen läßt (Fig. 8, 9), zeigt die Spermatogonientetrade deutliche Neigung zu einem der beiden Chromosomenballen. Ihre ganze Entwicklung scheint überhaupt von der Teilung und Trennung der Spermatogonien unabhängig zu sein. Das beweisen Fig. 6 und 11. Während beide Zellen annähernd in derselben Phase der Entwicklung sich befinden, nämlich in der frühen und späten Anaphase, ist in der einen (Fig. 6) die Spermatogonientetrade noch auf dem Klümpchenstadium, in der andern (Fig. 11) aber bereits in der Weckenform. Nach erfolgter Durchschnürung der Chromosomen aber ist meistens die Vierergruppenform erreicht, wie das die Fig. 8, 9, 11 und 12 zeigen. In Fig. 13 scheint sie sich in zwei Komponenten zerlegen zu wollen; in Fig. 14 ist sie anscheinend gar nicht vorhanden. Im letzten Falle könnte sie von einem der Chromosomenballen verdeckt sein.

Die Spermatogonientetrade geht also ungeteilt in eine der Spermatocyten über. Das wird noch durch folgende Tabelle bewiesen. Ich habe in denjenigen Cysten, welche die geteilten Spermatogonien enthielten, Zählungen angestellt über Spermatocyten mit und ohne Spermatogonientetrade. Dabei ergab sich folgendes: (s. Tabelle S. 212).

Die Zählungen wurden natürlich an verschiedenen Schnitten ausgeführt und ergaben stets Zahlen, welche mit geringen Abweichungen um 50 lagen. Als Hauptfehlerquelle für die Ungenauigkeit betrachte ich den Umstand, daß relativ zu viel Spermatogonientetraden in manchen Schnitten weggeschnitten sein können. Berücksichtigt man das, so kann

wohl mit Sicherheit der Satz aufgestellt werden: es gibt nach der Vermehrungsteilung zweierlei Arten Spermatocyten, solche mit und solche ohne Spermatogonientetrade.

Anzahl der Spermatocyten im Cystenschnitt	Spermatocyten mit Spermatogonientetrade	Spermatocyten ohne Spermatogonientetrade
8	4	4
7	3	4
8	5	3
13	8	5
8	4	4
9	4	5
9	5	4
10	5	5
4	2	2
8	5	3
9	5	4
12	6	6
10	5	5
14	7	7
4	2	2
4	2	2
12	6	6
10	5	5
10	5	5
14	7	7
Summe 183	95 = 51,9 %	88 = 48,1 %

d) Verbleib der Spermatogonientetrade. — Es erhebt sich nun sofort die Frage nach dem weiteren Verhalten der Spermatogonientetrade. Zur Beantwortung dieser Frage scheinen mir Stadien, die ich in den Fig. 24—27 abgebildet habe, von größter Wichtigkeit zu sein. Man sieht noch den Chromosomenballen mitten in der jungen Spermatocyte liegen. Die Spermatogonientetrade aber ist ganz blaß. In diesem Zustande wird sie in allen Phasen ihrer Entwicklung angetroffen, in der Klümpchenform (Fig. 24), in der Ringform (Fig. 25), in der ellipsenartigen Ringform (Fig. 26) und in der ausgebildeten Tetradenform (Fig. 27). Es wurden ganze Cysten mit verbleichenden Spermatogonientetraden gesehen, in denen der Grad der Blässe ein verschiedener sein kann, vom tiefschwarzen (Fig. 22, 23) bis zum ganz hellen, welcher die Tetrade kaum vom hellen Tone des Kerninnern unterscheiden ließ. Nach meiner Meinung löst sie sich im Kerne auf. Diese Auflösung kann aber nicht von

langer Dauer sein; denn auf den folgenden Stadien der Spermatocyten wird sie stets als schwarz färbbare Tetrade angetroffen (Fig. 28 u. folg.) Daß die in Fig. 28 und folgenden abgebildete Tetrade mit der Spermatogonientetrade identisch ist, schließe ich 1. aus der gleichen Größe beider und 2. daraus, daß die Bildung der übrigen Tetraden erst jetzt einsetzt.

Die Spermatocyten, welche bei der Verteilung der Spermatogonientetrade leer ausgegangen sind, müssen wohl zugrunde gehen; denn ich habe stets nur Spermatocyten erster Ordnung gesehen, welche, selbst auf den frühesten Stadien (Fig. 30 u. folg.), diese Tetrade enthielten.

3. Bildung von Tetraden.

a) Verteilung des Chromatins und Fadenbildung. — Fig. 23 und 24 zeigen die aus den Spermatogonienteilungen hervorgegangenen jungen Spermatocyten, welche sich nun zu Spermatocyten erster Ordnung weiter entwickeln. Die erste auffallende Veränderung im Kerne besteht darin, daß der Chromosomenballen die vielen Unebenheiten des Randes einbüßt und der Kern sich im Innern viel dunkler färbt als früher (Fig. 28). In denselben Cysten, in denen diese Zellen liegen, werden solche gefunden, die in Fig. 30 usw. abgebildet sind. Als folgendes Stadium der Entwicklung sehe ich Fig. 30 an. Der Chromosomenballen hat sich zerstreut, so daß der Kern von unendlich vielen, ganz feinen Chromatinkörnchen durchsetzt ist. Gleichzeitig hat sich ein Nucleolus von erheblicher Größe gebildet. Das Chromatin hat die Neigung, sich der Kernmembran anzulegen (Fig. 30, 31, 33). Übrigens merkt man der ganzen Zelle an, daß sich darin lebhafte Stoffwechselprozesse vollziehen. Als einen derartigen Prozeß fasse ich die Bildung des Nucleolus auf. Der Chromatinstaub verschwindet nun wieder; an seiner Stelle sieht man den Kern anfangs (Fig. 31) von dünnen, später (Fig. 32) von dickeren Chromatinfäden durchzogen, an denen man die Mikrosomen, welche in Fig. 30 im Kern zerstreut waren, deutlich erkennen kann. Der Kernmembran ist jetzt meistens nicht mehr so viel Chromatin angelagert (Fig. 32). Allmählich liegen nur noch wenige Chromatinkörnchen im Kerne zerstreut, bis diese auch vollständig verschwinden (Fig. 34), womit dann die Bildung der Chromatinfäden beendigt ist. Das Zählen der Segmente ist unmöglich, selbst wenn es gelungen ist, alle zu einer Spermatocyte gehörigen Kernschnitte aufzufinden; denn man kann Anfang und Ende der oft mehrmals durchschnittenen Fäden nicht einwandfrei herausfinden.

b) Ordnen der Fäden und Übergang derselben in die Tetradenform. — Schon in Fig. 34 scheinen die beiden halbellipsenförmigen Fäden sich einander nähern zu wollen; auch die übrigen vier einzelnen Fäden scheinen sich zu zwei Paaren vereinigen zu wollen. Solche Stadien

werden öfters angetroffen, sind jedoch nicht allzu häufig. Als folgendes Stadium der Tetradenbildung erblicke ich Phasen, wovon eine in Fig. 35 abgebildet ist. Es liegen hier immer zwei gleich lange Fäden von geringer Dicke nebeneinander. Der Abstand beider ist relativ groß. Die Dicke eines jeden der parallel gelagerten Fäden stimmt mit der Dicke derjenigen in Fig. 33 oder 34 überein, und ich nehme an, daß Stadium 35 aus Stadium 34 durch Parallelkonjugation hervorgegangen ist. Längsunterschiede sind auf diesem Stadium noch nicht so deutlich wie auf den folgenden. Es tritt nun — unter Annahme der Parallelkonjugation — eine Verschmelzung der parallelen Segmente an einem Ende des Paares ein (in Fig. 35 an einem Paare zu sehen, in Fig. 36 ebenfalls an einem Paare, ebenso in Fig. 37). Bald darauf nähern sich auch die noch freien Enden und verschmelzen, so daß Schleifen von langgestreckter Ellipsenform mit spitzen Ecken entstehen (zu sehen in Fig. 34, 36, 37 an drei Schleifen). Besonders aufgefallen ist mir, daß die Kerne alle möglichen Phasen der Tetradenbildung enthalten. So haben wir in Fig. 36 nicht konjugierte Fäden, parallel gelagerte, welche an einem Ende verschmolzen sind und eine fast fertige Tetrade. Dieser heterochrone Verlauf der Vierergruppenbildung trägt zur Erleichterung des Studiums natürlich wesentlich bei. Von der spitzen Ellipsenform schreitet die Entwicklung nun weiter, indem sich jede Hälfte der Ellipse in der Mitte knickt. Diese Knickung kann zweierlei Richtung haben: entweder biegt sie sich nach außen (Fig. 38 in der Mitte) oder nach innen (Fig. 39, links oben). Im ersten Falle entstehen Gebilde, welche an die bekannte Doppel-V-Form erinnert, im zweiten Falle entsteht eine 8-Form. Ich glaubte anfangs, diese letzte Form könne durch die eigentümliche Windung eines kreisförmigen Fadens vorgetäuscht sein, bis ich mich dann durch verschieden hohes Einstellen davon überzeugt habe, daß wirklich eine Verschmelzung in der Mitte der 8 stattfindet. Eigentümlich ist, daß nicht immer beide Hälften der 8 gleich groß sind (Fig. 39, 41). Die 8- und die Doppel-V-Form sind numerisch gleich verteilt, und ich halte sie für ein und dasselbe Stadium. Besonderen Wert schreibe ich noch der spitzen Ellipse zu, da hier die Größenunterschiede der zukünftigen Tetraden gut in die Erscheinung treten. Durch die beiden letztbeschriebenen Formen sind die vier Elemente der Tetrade bestimmt. Sie verwandeln sich durch Verkürzung der Fäden und Zusammenziehen des Chromatins nach den Spitzen der ehemaligen Ellipse hin in Tetradenform (zu sehen in Fig. 36, 38, 42). Anfangs ist die Begrenzung der jungen Tetrade noch zackig (Fig. 41, 42), dann aber werden ihre Ränder glatt, und in der Spermatocyte erster Ordnung (Fig. 46, 47) liegen lauter typische Tetraden.

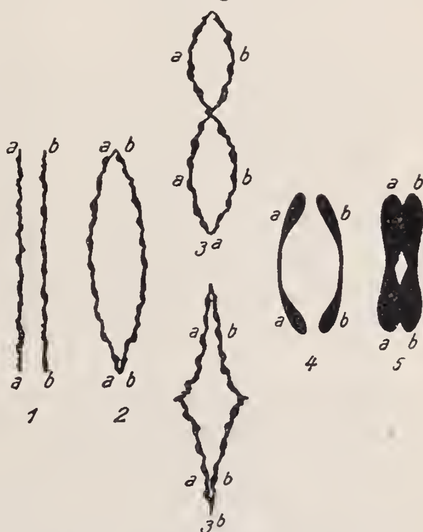
Sie können noch morphologisch variieren, wie das ja zur Genüge bekannt ist.

Unter den in den Spermatocyten gebildeten Tetraden ist natürlich auch die Spermatogonientetrade enthalten. Sie stimmt, wie sich aus Vergleichung der früheren Stadien mit den jetzigen ergab, in der Größe mit einer mittelgroßen Vierergruppe der Spermatocyte erster Ordnung überein.

Der Nucleolus ist während der Tetradenbildung in allen Zellen anzutreffen. Wie aus den Figuren ersichtlich, nimmt seine Größe allmählich ab. Wenn alle Vierergruppen ausgebildet sind, ist er verschwunden.

4. Erste Reifungsteilung. — Die Vierergruppen treten nunmehr in die erste Reifungsteilung ein (Fig. 49). In einzelnen, besonders günstigen Fällen kann man schon jetzt die Zahl der Tetraden und Größenunterschiede klar erkennen. Es sind mit geringen Ausnahmen 12 Tetraden vorhanden, darunter 1 besonders große, 9 mittlerer Größe und 2 auffallend kleine. Auch die Äquatorialplatte der ersten Reifungsteilung zeigt in der überwiegenden Anzahl von Fällen 12 Tetraden (Fig. 52—57).

Textfig. 1.



Verlauf der Tetradenbildung bei *Hydrometra paludum* Fabr.

Auf jeden Fall finden sich immer die beiden kleinen Vierergruppen; mitunter aber tritt die große Vierergruppe nicht so auffallend hervor (Fig. 53, 55). Ganz vereinzelt werden Platten mit 13, ja sogar 14 Tetraden beobachtet. In Fig. 58 ist eine mit 13 abgebildet. Da die Schnitte mit 13 Elementen den normalen sonst genau glichen und keine Spur von Abnormität aufwiesen, habe ich über die Häufigkeit der überzähligen Tetraden folgende Zählung angestellt. Auf beliebig herausgesuchten Schnitten wurde in den entsprechenden Cysten die Zahl der Spermatocyten erster Ordnung überhaupt festgestellt, dann die Zahl derjenigen unter diesen ermittelt, welche im Äquatorialplattenstadium waren und schließlich bei diesen die Tetradenzahl notiert. Dabei ergab sich folgendes:

Zahl der Spermatocyten I. Ordnung im Cystenschnitt	Zahl der hierunter sich befindenden Äquatorialplatten	Tetradenzahl
6	1	12
18	4	12
7	2	12
15	3	2 mit 12, 1 mit 13
18	2	12
6	1	12
8	3	12
7	3	12
10	2	12
7	4	3 mit 12, 1 mit 14
5	3	12
7	3	12
12	3	12
11	4	12
4	1	12
8	3	12
12	1	12
9	2	12
19	6	5 mit 12, 1 mit 13
13	3	12
	54	

Hieraus ersieht man zweierlei: zunächst kann die Zahl 12 als Normalzahl für die Tetraden gelten. Ferner sind unter 54 Äquatorialplatten zwei mit 13 und eine mit 14 Tetraden, was ungefähr 6% (genau 5,55%) an Platten mit überzähligen Tetraden gleichkommt. Da derartige Zählungen, um ihnen allgemeinen Wert zu verleihen, wiederholt angestellt wurden und durchweg zu Zahlen um 6 herum führten, hat obige Angabe allgemeine Gültigkeit. Was weiter aus den Spermatocyten mit überschüssigem Chromatin wird, konnte nicht festgestellt werden, weil unmittelbar nach der Teilung Verklumpung der Chromosomen eintritt.

Die Seitenansicht der ersten Reifungsteilung (Fig. 59) zeigt, daß die auseinanderrückenden Chromosomen durch zwei Fäden miteinander verbunden bleiben. Wenn auf diesem Stadium nur ein Faden als Verbindung gesehen wird, so nehme ich an, daß das durch die ungünstige Lage der Tetrade verursacht wird. Die Kernmembran hat sich aufgelöst und bildet sich auch nach der Teilung nicht wieder (Fig. 60, 61).

5. Zweite Reifungsteilung. — Unmittelbar nach der ersten Reifungsteilung setzt die zweite ein. Daß kein Ruhestadium zwischen beiden liegt, schließe ich sowohl aus dem geringen Umfange der Zellen,

als auch aus der Form der Chromosomen (Fig. 62). Diese sind anfangs gebogen und in der Mitte am dicksten, stimmen also in ihrem Baue mit der in Fig. 59 abgebildeten Tetradenhälfte genau überein. Die Chromosomen strecken sich alsbald und teilen sich (Fig. 63). Cysten mit der zweiten Reifungsteilung sind im allgemeinen nicht zu häufig. Jedoch werden Äquatorialplatten genug angetroffen, um die Zahl der Chromosomen feststellen zu können (Fig. 64). Es sind wieder 12, und in den günstigsten Fällen können auch die Größenunterschiede genau beobachtet werden. Wir haben wieder 1 große, 9 mittelgroße und 2 kleine Chromosomen. Nach erfolgter Teilung tritt Verklumpung der Chromosomen ein (Fig. 66, 67). Eine Kernmembran ist in den ganz jungen Spermatiden (Fig. 67) noch nicht erkennbar.

6. Spermatide und Spermatozoon. — Kurze Zeit nach Isolierung der Spermatide umgibt der Kern sich mit einer Membran (Fig. 68). In den meisten Fällen liegen die Chromosomen verklumpt da (Fig. 69); sie können aber auch noch ihre Form beibehalten haben (Fig. 68). In manchen Spermatiden (Fig. 73) liegt ein Chromosom abseits von den zusammengehäuften übrigen. Fig. 70 zeigt den Beginn dieser Absonderung, die in Fig. 71 weiter, in Fig. 72 ganz durchgeführt ist. In den meisten Spermatiden ist diese Trennung nicht vorhanden; ich schreibe ihr aus dem Grunde nicht viel Bedeutung zu, weil sie für die Folge nicht mehr vorhanden ist.

Der Kern wächst nun (Fig. 75); dabei streben die Chromosomen auseinander, wobei ihre Gestalt und die Zahl derselben noch einmal deutlich in Erscheinung treten. Gleichzeitig sind sie durch Anastomosen untereinander verbunden. Bald aber verlieren die Chromosomen die runde Form und nehmen zackige Begrenzung an (Fig. 76). Von jedem Chromosom gehen mehrere Fäden aus, welche es mit den übrigen Chromosomen verbinden. Hierauf verschwinden diese Fäden, und der Kern ist mit größeren und kleineren Chromatinelementen, deren Zahl in den einzelnen Kernen variabel ist, angefüllt (Fig. 77).

Sobald die Anastomosen gebildet werden, erscheinen in der Spermatide Centriolen (Fig. 75). Oft liegen zwei Centriolen dicht beieinander; ebenso häufig aber sind sie zu einem kurzen Stäbchen verschmolzen (Fig. 76). Anfangs sind sie von einem kleinen, dann von einem größeren Hofe umgeben, welcher durch eine feine Membran gegen das Cytoplasma abgeschlossen ist. Dieser Hof liegt stets dem Kerne an und ist im Innern genau so hell wie der Kern. Auf späteren Stadien färbt er sich öfters etwas dunkler (Fig. 79, 80). In manchen Fällen tritt außer den in ihm liegenden Centriolen noch eine Vacuole auf. Wie später noch beschrieben

wird, enthält die Spermatide noch einen Nebenkern. Der Hof wandert nun zwischen Kern und Nebenkern, wobei die Centriolen stets dem Nebenkern anliegen. Das Chromatin verteilt sich inzwischen über den ganzen Kern (Fig. 80) und färbt sich bald gleichförmig dunkel (Fig. 81). Auf diesem Stadium wird an der dem Hofe gegenüberliegenden Seite des Kernes noch ein dunkel gefärbtes Gebilde angetroffen, dessen Entstehung und Entwicklung nicht mit Sicherheit festgelegt werden konnte. Es scheint schon in Fig. 80, dem Hofe anliegend, vorhanden zu sein. Es wird zum Spitzenstück des Spermatozoons, worauf seine Lage in Fig. 81 schon hindeutet. Die Chromatinmasse geht aus der Kugelform in eine spitze Form über (Fig. 82); sie unterscheidet sich in der Färbbarkeit nicht mehr vom Spitzenstück. Alle Teile strecken sich nun (Fig. 82) und nach kurzen Formveränderungen (Fig. 83) ist das Spermatozoon fertig (Fig. 84).

II. Mitochondrien, Pseudochromosomen und Dotterkugeln.

Der Mitochondrienkörper tritt schon in den Spermatogonien hervor. Zwar ist in den allerjüngsten (Fig. 1—2) noch nichts zu bemerken. Sobald aber die Sammlung des Chromatins in den beiden Lagern vollendet ist (Fig. 5), sieht man um den ganzen Kern herum eine dunkle Zone fadenförmiger Mitochondrien. Nur in ganz vereinzelten Ausnahmen (Fig. 3) bieten sich die Mitochondrien schon auf diesem Stadium in andrer Gestalt dar. Man sieht dann den Zellkörper mit feinen Körnchen angefüllt, welche mit Eisenhämatoxylin tief schwarz, mit Delafieldschem Hämatoxylin nicht färbbar sind. Wie ich durch Drehen der Mikrometerschraube feststellen konnte, sind sie im Kerne nicht vorhanden.

Während der Vermehrungsteilungen behält der Mitochondrienkörper diese fadenförmige Struktur bei. In der jungen Spermatocyte (Fig. 14, 23, 24) umlagert er also wieder den Kern. Auch kann er zu dieser Zeit dem Kerne als einseitige Haube anliegen (Fig. 22); dann ist die Mitochondrienzone an der entgegengesetzten Kernseite äußerst schmal.

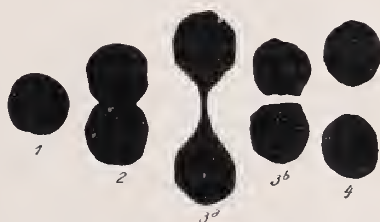
Auffallenderweise sind die Mitochondrien nicht in allen Spermatogonien enthalten. Es gibt innerhalb derselben Cyste vereinzelte Zellen, in denen nicht die geringste Spur derselben enthalten ist.

Sobald das Chromatin sich nach den Vermehrungsteilungen im Kerninnern verteilt, verändert sich der Mitochondrienkörper. Die Zone lockert sich auf und die einzelnen Fäden derselben verteilen sich ziemlich regelmäßig im Plasma. Mit Eisenhämatoxylin färben sie sich jetzt genau so schwarz wie das Chromatin, nehmen jedoch — auch für die Folge — niemals Delafieldsches Hämatoxylin an, ein Beweis dafür, daß sie nicht

aus Chromatin bestehen. Dieser Zustand bleibt bestehen (Fig. 30—33), bis die Bildung der Chromatinfäden vollendet ist.

Während der Konjugation der Segmente und der Ausbildung der Tetradenformen ändert sich das Bild. Neben den fadenförmigen Mitochondrien sieht man jetzt noch kugelförmige von verschiedener Größe. Neben der Kugelform besteht noch die Hantelform, letztere in verschiedenen Variationen. Zunächst als Hantel mit runden, dicht nebeneinanderliegenden Endkugeln; dann als Hantel mit länglichen Endkugeln, die durch einen dünnen Faden verbunden sind und endlich als Hantel, bei dem der Verbindungsfaden fehlt, oder die zwischen den Endkugeln durchbrochen sind. (Die hierher gehörigen Bilder sind in den Fig. 38 u. folg. leicht herauszufinden.) Die gleichzeitig zu konstatierende bedeutende Zunahme der Mitochondrien kann ich nicht anders erklären, als durch die Annahme, daß die Mitochondrien sich auf diesem Stadium vermehren. Die Hantelformen mit ihren Variationen sind nichts andres als die Teilungsfiguren der einzelnen Körner. Ich stelle die einzelnen Stadien der Teilung in Textfigur 2 noch einmal nebeneinander.

Textfig. 2.



Vermehrungsteilung eines Mitochondrienkörpers.

1 stellt das ursprüngliche Körperchen dar; 2 das eingeschnürte, dessen Komponenten dann eine Zeitlang durch einen Verbindungsfaden in Zusammenhang bleiben (3*a*) oder sich sofort trennen (3*b*); in 4 sieht man die Tochtermitochondrien.

Interesse beanspruchen noch die Fig. 40, 43 und 44, aus denen hervorgeht, daß die Vermehrung der Mitochondrien sich zeitlich verschieben kann. Auch gibt es wieder einzelne Spermatocyten, in denen anscheinend gar keine Mitochondrien enthalten sind (Fig. 45).

Auf diesem Stadium der Spermatocyte werden auch Dotterkugeln angetroffen (Fig. 38, 39, 42). Es sind runde Gebilde, welche eine dunklere Farbe als das Cytoplasma aufweisen. Sie kommen in verschiedenen Modifikationen vor. Einmal sind sie von völlig homogener Struktur; dann aber gibt es Dotterkugeln, in denen schwarz gefärbte Fäden in aufgerolltem Zustande liegen. Solche Fäden können in geringen und größeren Mengen vorhanden sein. Diese Fäden sind nichts anders als Mitochondrien. Dieselbe Beobachtung habe ich noch deutlicher schon 1907 bei *Hydrometra lacustris* gemacht, ohne jedoch damals die Bedeutung

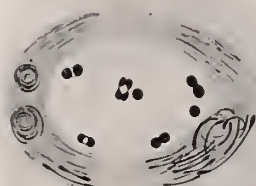
derselben zu erkennen. Ich lasse zwei Abbildungen[1]) aus meiner damaligen Arbeit folgen. Hier sieht man nun den Kern herum eine dunkle Zone, in der dunkel gefärbte Dotterkugeln liegen. In diesen wiederum liegen die aufgerollten Mitochondrien, die sich dann strecken (in Textfig. 4 rechts unten besonders deutlich zu sehen), und zum Teil schon Hantelform angenommen haben.

Textfig. 3.



Mitochondrienbildung in den Spermatocyten von *Hydrometra lacustris*.

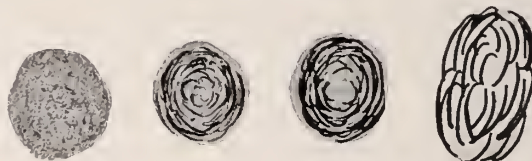
Textfig. 4.



Mitochondrienbildung und -teilung in den Spermatocyten von *Hydrometra lacustris*.

Die geteilten Mitochondrien wachsen bei *Hydrometra paludum* zu großen Kugeln heran, welche während der Reifungsteilung in einer Zone um die Spindel liegen. Textfig. 5 stellt noch einmal die Entstehung der Mitochondrien aus den Dotterkugeln im Zusammenhang dar.

Textfig. 5.



Entwicklung der Mitochondrien aus den Dotterkugeln.

In vereinzelten Fällen habe ich auch Chondriokonten (Meves) beobachtet, wie das Fig. 46 zeigt. Mit Auftreten der Centriolen in den Spermatocyten erster Ordnung kommt auch in die Mitochondrien Ordnung,

---

[1]) Die hier wiedergegebenen Abbildungen sind Autotypien, welche nach den Originalen meiner damaligen Arbeit ohne jegliche nachträgliche Veränderung angefertigt sind. Sie sind in der Arbeit von 1907 als Lithographien auf Taf. XLII enthalten, Fig. 42 und 45.

die vorher (Fig. 47) ganz regellos im Plasma zerstreut liegen. Wie aus Fig. 51 ersichtlich, bilden sie an jedem Pole der Zelle eine Zone, so daß der Äquator frei von ihnen bleibt. Niemals aber dringen sie bis zum Centriol vor, vielmehr halten sie sich stets in bestimmtem Abstande von diesem (Fig. 50). Die Längsrichtung der Mitochondrien geht auf die Centriolen zu, was besonders schon in Fig. 50 zu sehen ist. Auf diesem und den folgenden Stadien wachsen die Mitochondrien zu besonders großen Gebilden heran, welche manchmal sogar die Tetraden an Größe übertreffen. Die in der Mitte eingekerbten haben auffallende Ähnlichkeit mit den eingeschnürten Vierergruppen, so daß die Benennung »Pseudochromosomen« von nun an berechtigt ist. Ihre Verteilung auf die Tochterzellen zeigen Fig. 60 und 61.

In der zweiten Reifungsteilung zeigen sie genau dieselbe Anordnung wie in der ersten, allerdings nicht so streng gesetzmäßig (Fig. 63). Das wird auch aus Fig. 65, der Polansicht der Zelle, klar. In welch ungeheuren Mengen sie auftreten können, zeigt uns die keineswegs seltene Fig. 67.

Sowohl in der ersten als auch in der zweiten Reifungsteilung gibt es vereinzelte Zellen, innerhalb derselben Cyste mit den andern liegend, welche gar keine oder nur vereinzelte Mitochondrien (Pseudochromosomen) besitzen. Sie sind sonst durchaus normal.

In der isolierten Spermatide verblassen die Mitochondrien und Pseudochromosomen und werden erst wieder sichtbar, wenn der Umbildungsprozeß der Spermatide zum Spermatozoon beginnt.

Dann liegt im Plasma jeder Zelle ohne Ausnahme ein größerer runder Körper (Fig. 68, 69), welcher durch seine fadenförmige Struktur seine Identität mit dem Mitochondrialapparat beweist und der wegen seines späteren Verhaltens als Nebenkern bezeichnet werden muß. Er verliert bald seine fadenförmige Struktur und nimmt auf Schnitten das Aussehen von Fig. 76 an. Die dunklen Streifen, welche mit hellen abwechseln, sind Querschnitte von Schalen, die sich gebildet haben Diese machen nun noch eine Anzahl Veränderungen durch; bald haben sie regelmäßige Anordnung (Fig. 74), bald labyrinthartige (Fig. 77). Eine besondere Anordnung ist in Fig. 78 abgebildet. Hier haben die Schalen sich voll Farbstoff gesogen. Auch diesen Bau gibt der Nebenkern auf, um wieder strukturlos zu werden, womit gleichzeitig eine Streckung verbunden ist (Fig. 79, 80). Er liegt mit dem einen Ende von nun ab regelmäßig dem Kerne an (Fig. 79, 80). Von den Centriolen aus wächst der Achsenfaden des Spermatozoons in ihn hinein, den er auf dem lang-

gestreckten Stadium des Spermatozoons umgibt. Querschnittbilder des Nebenkerns zeigen deutlich, daß er sich nach Hineinwachsen des Achsenfadens in zwei Teile teilt[1]).

D. Bibliographischer und theoretischer Teil.

I. Die Parallelkonjugation der Chromosomen (Junktionshypothese.)

Die in den Spermatocyten auftretenden Doppelfäden habe ich durch Parallellagerung zweier Einzelfäden gedeutet. Hiermit setze ich mich in Widerspruch zu der Tendenz mancher Autoren (Fick, Meves, Häcker und Goldschmidt), welche die in den diakinetischen Stadien vorhandenen Doppelsegmente durch frühzeitige Längsspaltung interpretieren wollen. Daß bei manchen Objekten eine Deutung sowohl zugunsten als auch zu ungunsten der Junktionshypothese möglich ist, haben z. B. die äußerst schönen Bilder und einleuchtenden Erörterungen K. E. und A. Schreiners und andrerseits die Kritiken der Gegner der Parallelkonjugation an diesen Arbeiten gezeigt; die letzteren Autoren geben dies für *Myxine glutinosa* (1905) auch selbst zu. Zunächst sei nur angeführt, daß es sich hierbei hauptsächlich um einen Streit um morphologische Dinge handelt, und daß sowohl die eine wie die andre Interpretation zu demselben Ziele führt. Ganz allgemein kommt bei der Konjugation »end to end« der Tetrade der Bau $\frac{a|a}{b|b}$ zu und bei Parallelkonjugation die Formel $\frac{a\ b}{a\ b}$, wo a und b die aneinander bzw. nebeneinander gelagerten Chromosomen sind. Durch die Reifungsteilungen wird die Tetrade so geteilt, daß auf jede der vier Spermatiden in beiden Fällen ein halbes Chromosom kommt. Das Resultat ist also in beiden Fällen dasselbe. Eine ähnliche Äußerung macht auch Ziegler (1908) für *Helix nemoralis*.

Wenn ich mich trotzdem bei *Hydrometra paludum* für die Parallelkonjugation der Segmente entscheide, so geschieht das aus folgenden Gründen.

1. Vergleicht man die in den Fig. 32 und 33 enthaltenen Einzelfäden mit jedem der in Fig. 35 parallel liegenden, so stimmen diese in der Dicke

---

[1]) Duesberg (1910, S. 88) findet einen Widerspruch zwischen meiner Angabe (1907, S. 714), daß der Nebenkern sich bei *Hydrometra lacustris* nicht teile, und der Fig. 76 (Taf. XLIII). Nach nochmaliger Durchsicht der Stadien muß ich Duesberg recht geben: auch bei *H. lacustris* teilt sich, genau wie bei *H. paludum*, der Nebenkern in zwei Hälften. Nur bleiben die Hälften nebeneinander liegen, womit ich in Übereinstimmung mit *Pyrrhocoris apterus* (Gross 1906) und *Notonecta glauca* (Pantel und de Sinéty 1906) bin; sie trennen sich nicht wie bei *Blatta germanica* (Duesberg 1910).

ganz genau überein. Ich kann schwer annehmen, daß jeder der zwei in Fig. 35 parallel liegenden Fäden so schnell wieder zur Dicke des ursprünglichen Fadens heranwächst, wie es bei Annahme der Längsteilung erforderlich wäre.

2. Die Entfernung der Komponenten eines Doppelsegmentes (Fig. 35) ist so groß, daß eine Entstehung der Fäden durch Längsspaltung höchst unwahrscheinlich ist. Auch die meisten Abbildungen in der Literatur, bei denen Längsspaltung postuliert wird, zeigen geringere Entfernung.

3. Manche Ellipsen (Fig. 37, 39) sind zu kurz, um die Annahme einer Konjugation end to end einleuchtend erscheinen zu lassen.

Ich bin mir sehr wohl bewußt, daß diesen Gründen nur relativer Wert zukommt, und daß bei Nichtanerkennung derselben paarweise Aneinanderlagerung von Segmenten angenommen werden kann. Dann müßte natürlich die Seriierung der Phasen (Textfig. 1) eine andre sein. Vielleicht ginge man dann am besten von der spitzen Ellipsenform (2) aus, weil bei dieser die Einheit des Fadens an den Enden noch gewahrt wäre. Darauf könnten die Stadien 3, 4 und 5 folgen. Wie aber wäre in diesem Falle Stadium 1 zu erklären? Von besonderem Werte erscheint bei dieser Annahme noch die Form 3*a*, indem die mittlere Verschmelzungsstelle der 8 als Grenzpunkt der beiden aneinanderliegenden, längsgespaltenen Fäden gedeutet werden müßte.

II. Die Reduktionsfrage.

Die so wichtige Frage der Chromatinreduktion kann in bestimmter Weise nur dann gelöst werden, wenn sowohl die Normalzahl der Chromosomen in der Spermatogonie als auch die Zahl der Tetraden in der Spermatocyte erster Ordnung bekannt sind. Von diesen beiden Punkten konnte nur der letzte einwandfrei festgelegt werden; die Spermatocyte enthielt zwölf Tetraden.

Setzen wir parallele Konjugation der Fäden voraus, so kommt dem Doppelsegment die Formel a/b zu. Dieses Stadium geht durch Querhalbierung jedes Fadens in die Vierergruppe über, der also der Wert $\frac{a \mid b}{a \;\; b}$ zukommt. Diese Tetrade tritt in die erste Reifungsteilung ein, wodurch jeder Spermatocyte zweiter Ordnung der Anteil a/b übermittelt wird. Erst in der zweiten Reifungsteilung werden die ungleichwertigen Elemente a und b voneinander getrennt: diese ist somit sicher eine Reduktionsteilung.

Die erste Reifungsteilung fasse ich, wie ich schon an andrer Stelle (1912) dargelegt habe, als Äquationsteilung auf, trotzdem jedes Chromosom der

Quere nach halbiert wird. Diese Auffassung wird dadurch gerechtfertigt, daß wir nicht wissen, wie die Erbeinheiten innerhalb eines Chromosoms angeordnet werden, ob der Länge oder der Quere nach. Ich nehme also an, daß sowohl durch Längs- als auch durch Querteilung desselben Chromosoms erbidentische Hälften entstehen.

Somit verläuft die Chromatinreduktion bei *Hydrometra paludum* nach dem Postreduktionsmodus. Ein solcher wurde schon von Gross für *Syromastes marginatus* (1904) und *Pyrrhocoris apterus* (1906) gefordert. Bei den amerikanischen Species scheint der Präreduktionsmodus vorzuherrschen, wie dies von Wilson (1905, 1906) und Montgomery (1906), wenigstens für die normalen Chromosomen, angegeben wird.

III. Vergleich der Befunde mit denen bei Hydrometra lacustris und andern Hemipteren.

Ein Versuch der Einigung der Chromatinreifung von *Hydrometra paludum* mit der von *Hydrometra lacustris* scheint auf den ersten Anblick hin an manchen Unterschieden in den Chromosomenverhältnissen beider scheitern zu wollen. Zwar finden sich zwei große Übereinstimmungen bei beiden Arten, die mir für die Beurteilung des verschiedenen Verlaufes der Spermatogenese sehr wichtig erscheinen. Es sind dies Anfangs- und Endstadium der Genese. Die jungen Spermatogonien haben bei beiden übereinstimmenden Bau; bei beiden finden wir dieselbe Art der Verteilung und Sammlung des Chromatins in zwei verschiedenen Lagern. Auch das Endstadium ist bei beiden genau dasselbe. Man vergleiche Fig. 77 meiner damaligen Arbeit mit Fig. 81 der vorliegenden. In beiden ist das Chromatin eine strukturlose und, wie wir annehmen dürfen, flüssige Masse, in der bei beiden Arten zwölf Chromatinelemente enthalten sind. Der Weg jedoch, auf dem bei beiden diesem gleichen Zustande zugestrebt wird, ist ein verschiedener.

Die oben angedeutete Einigung kann unter einer Voraussetzung zustande kommen, und diese bezieht sich auf die Zahl der Chromosomen in der Spermatogonie. Fig. 13 hat gezeigt, daß diese Zahl zwischen 10 und 15 liegen muß. Meine Annahme geht dahin, daß in der Spermatogonie sich zwölf Chromosomen befinden. Unter diesen befindet sich ein zweiwertiges, das in Fig. 4 als Diplosom vorhanden ist. Diese zwölf Chromosomen sind dann in zwei Lagern verteilt, und zwar elf normale in den Chromosomenballen und eins in dem Chromatinklümpchen. Daran, daß bei *Hydrometra lacustris* elf, bei *H. paludum* aber zwölf Spermatogonienchromosomen vorhanden sind, dürfen wir uns nicht stoßen; denn es existieren bei andern verwandten Arten noch erheblichere Differenzen.

Ich erinnere nur an die Untersuchungen BRAUNS über die specifischen Chromosomenzahlen in der Gattung *Cyclops* (1908), wo die Normalzahlen zwischen 22 (*Cyclops strenuus*) und 6 (*Cyclops gracilis*) schwanken. Allerdings sind bei verwandten Arten der Hemipteren solche Unterschiede noch nicht konstatiert worden. *Alydus pilosulus* und *Alydus eurinus* besitzen beide 13 Chromosomen, *Corizus alternatus* und *C. lateralis* beide ebenfalls 13, *Anasa tristis*, *A.* sp. und *A. armigera* je 21 (MONTGOMERY 1906).

Unter der obigen Voraussetzung wäre der weitere Verlauf der normalen Chromosomen der, daß aus ihnen elf Vierergruppen hervorgingen. Diese treten also hier, genau wie bei *H. lacustris* in der Normalzahl auf, eine Erscheinung, die zwar recht sonderbar ist, auf die aber nicht allzu viel Wert zu legen ist. Denn in dem ausgebildeten Spermatozoon (Fig. 81) scheint die Individualität der Chromosomen sicherlich aufgehoben. Es ist also einerlei, ob — bei typischer Reduktion der Normalzahl der Chromosomen auf die halbe Tetradenzahl — die halbe Normalzahl zweiwertiger Tetraden oder — so wie die Verhältnisse bei *Hydrometra* liegen — die volle Normalzahl einwertiger Tetraden vorhanden ist.

Und nun zum Vergleich der sich abnorm verhaltenden Chromosomen. Bei *Hydrometra lacustris* hat sich (1907) folgendes ergeben. Schon in den Spermatogonien fiel ein Chromosom durch seine besondere Größe auf. Ich habe damals aus meinen Befunden geschlossen, daß dieses große Chromosom während der Synapsis in zwei Chromatinnucleoli zerfällt. Hieraus hat GROSS (1912) den Schluß gezogen, daß das große Chromosom von Anfang an zweiwertig gewesen sei. Dieser Schluß scheint durch die gegenwärtigen Beobachtungen bestätigt; denn in den Spermatogonien (Fig. 4) werden manchmal anstatt eines Chromatinelementes zwei gefunden. Ich halte also die während der Synapsis bei *H. lacustris* auftretenden beiden Chromatinnucleoli und das bei *H. paludum* in Form einer Vierergruppe auftretende Element für identisch. Und damit muß ich auf das accessorische Chromosom zu sprechen kommen.

Vorher möchte ich an dieser Stelle jedoch noch zwei Eigentümlichkeiten der Spermatogenese erwähnen. Die erste davon betrifft die Synapsis. Es ist auffallend, daß bei so nahen Verwandten wie *H. paludum* und *H. lacustris* die Synapsis, sogar mit Spiremstadium, einmal vorhanden ist, das andre Mal fehlen kann. Ich habe schon in der Einleitung angedeutet, daß die Hemipteren sich in bezug auf diesen Punkt recht verschieden verhalten können. Bei *Syromastes marginatus* (1904) tritt während der Synapsis ein zusammenhängendes Spirem auf, ebenso bei *Hydrometra lacustris* (1907). Bei *Pyrrhocoris apterus* (GROSS 1906), wobei

übrigens zwei Synapsisstadien auftreten, das erste nach der letzten Vermehrungsteilung und das zweite bei Konjugation der Chromosomen, fehlt das Spirem. Es fehlt ebenso bei *Euschistus* (Montgomery 1911) im Leptotänstadium. Statt dessen wird bei dem letzten Objekt zwischen Leptotän- und Pachytänstadium Synizesis der Autosomen angetroffen. Als solche ist auch die erste Synapsis bei *Pyrrhocoris apterus* anzusprechen.

Die zweite Eigentümlichkeit besteht in der Übereinstimmung der einzelnen Phasen bei der Entwicklung der Spermatogonientetrade und der echten Vierergruppen. In beiden tritt ein Stadium auf, das ich mit einer langgestreckten Ellipse verglichen habe. Auf dem ganzen Faden derselben sind in beiden Fällen die Mikrosomen deutlich zu erkennen, und bei beiden Ellipsen zog sich das Chromatin nach den Enden der Hauptachse zusammen, um eine Vierergruppe entstehen zu lassen. Diese augenfällige Übereinstimmung kann als Beweis dafür angesehen werden, daß die Spermatogonientetrade mit den echten Tetraden verwandt ist, worauf ich im nächsten Abschnitte noch zu sprechen komme.

IV. Das accessorische Chromosom.

Gross gibt in seiner neuesten, kritischen Arbeit über »Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung bei Insekten« (1912) u. a. eine sehr klare Charakteristik des accessorischen Chromosoms. Ich habe anfangs schon erwähnt, daß er das Wesen der Heterochromosomen nicht in numerischen oder Größenverhältnissen erblickt, sondern in der Inaktivität während der Kernruhe, in welcher die Autosomen ihre größte Aktivität, die in der Abgabe von Stoffteilchen bestehen mag oder als fermentative Tätigkeit gedacht werden kann, entfalten. Danach hat das accessorische Chromosom folgende Charakteristika:

»In den männlichen Sexualzellen zahlreicher Insekten findet sich ein Paar von Chromosomen, die sich namentlich durch zwei Eigentümlichkeiten von den Autosomen unterscheiden. Erstens zeigen sie eine auffallende Tendenz miteinander zu verschmelzen. Sie bilden daher auf gewissen Stadien ein scheinbar einheitliches Element, das aber fast immer seine Bivalenz mehr oder weniger deutlich erkennen läßt. Ferner nehmen sie während der Ruheperiode der Kerne in den Spermatocyten und oft auch schon in den Spermatogonien nicht an den Veränderungen teil, die alle andern Chromosomen auf diesen Stadien durchmachen. Während diese nämlich einer weitgehenden Auflösung verfallen, die bis zu einer »staubförmigen Verteilung« des Chromatins gesteigert werden kann, behalten die accessorischen Chromosomen das kompakte Aussehen bei, das sie gleich den andern während der Mitose hatten. Da sich gleich-

zeitig ihre eben erwähnte Verschmelzungstendenz jetzt wieder äußert, bilden sie gewöhnlich einen Chromatinnucleolus, der aber sehr oft in zwei zerfällt. Die accessorischen Chromosomen nehmen nicht an der Größenzunahme der Autosomen teil, erscheinen daher nach Ablauf der Wachstumsperiode oft beträchtlich kleiner als jene, ferner unterliegen sie nicht der Längsteilung. Sie bilden daher auch keine Tetrade wie jedes Paar von Autosomen, sondern nur eine Dyade. Daraus folgt wieder, daß sie nicht beide Reifungsteilungen mitmachen können, von denen ja eine wohl immer eine Längsteilung ist. So kommt es, daß die eine Hälfte der Spermatiden ein Chromosom weniger erhält als die andre.«

Wenden wir diese Merkmale auf das abnorme Chromosom bei *Hydrometra paludum* an, so ergibt sich folgendes: In den Spermatogonien befinden sich oft zwei Elemente, welche die Tendenz haben, miteinander zu verschmelzen. Während der Kernruhe verteilen sich in den Spermatocyten die Autosomen »staubförmig«, fast genau so wie bei *Pyrrhocoris apterus*; das abnorme Chromosom hat jedoch kompaktes Aussehen, indem es Gestalt einer Tetrade angenommen hat. Es zeigt also während der Aktivität der Autosomen deutliche Inaktivität. Ihm kommt also mit Recht die Bezeichnung »accessorisches Chromosom« zu. Allerdings hat es seine Aktivität noch nicht ganz eingebüßt, was namentlich für die Reifungsteilungen gilt, an denen es sich ja beteiligt.

Im vorigen Abschnitte habe ich gezeigt, daß eine Identität der beiden Chromatinnucleoli von *Hydrometra lacustris* mit der Spermatogonientetrade von *H. paludum* gefordert werden kann. Beide Gebilde stellen in der Tat nichts andres dar als verschiedene Entwicklungsstadien des accessorischen Chromosoms in der Spermatogenese. Bei beiden ist der Grad der erlangten Passivität ein verschiedener. Am meisten Aktivität hat sich die Spermatogonientetrade bei *H. paludum* erhalten; denn sie nimmt an beiden Reifungsteilungen noch in Form einer normalen Tetrade teil und wird auch noch im Kern aufgelöst. Ihr abnormes Verhalten hierbei offenbart sich aber schon in der zeitlichen Verschiebung dieser Auflösung. Sie ist ganz auf das Anfangsstadium der Spermatocyte verschoben, in denen die Autosomen sich noch vollständig passiv verhalten. Überhaupt besitzt sie noch soviel Aktivität, daß sie sich zu einer normalen Tetrade entwickelt. Einen solchen Grad von Aktivität hat das entsprechende Gebilde bei *H. lacustris* nicht mehr aufzuweisen. Hier löst sich das zweiwertige Chromosom in der jungen Spermatocyte nicht mehr auf, sondern zeigt während der Synapsis, die ja als Aktivitätsperiode der Autosomen bezeichnet werden muß, völlige Passivität. Selbst in den

Fällen, wo sie in Form zweier Chromatinnucleoli auftritt, gelingt es ihr nicht, in Tetradenform überzugehen. Daher bleibt sie in der Doppelform dauernd bestehen und wird in beiden Reifungsteilungen geteilt.

V. Die Mitochondrien.

Um die Mitochondrien, namentlich um ihre Herkunft, ist in den letzten Jahren ein heftiger Streit entbrannt. Eine übersichtliche, kritische Darstellung desselben bis zum Jahre 1910 hat Duesberg gegeben. Die eine Partei, zu welcher Meves (1900, 07, 08), Benda (1903), Bouin (1905), Duesberg (1908, 10), Wilke (1907), Giglio-Tos und Granata (1908), Gérard (1909), Korotneff (1909) und Dingler (1910) gehören, betrachten die Mitochondrien als protoplasmatische Elemente; die andre Partei, mit Goldschmidt (1904, 07), Dumez (1902), Janssens (1905), Popoff (1907), Wassilieff (1907), Buchner (1909) und Jörgensen (1910), leiten sie aus dem Chromatin des Kernes ab. Das überschüssige Chromatin soll auf dem Bukettstadium aus dem Kerne auswandern, um als Mitochondrien weiter zu existieren. Dem gegenüber ist zu betonen, daß Mitochondrien aber schon in den Spermatogonien nachgewiesen sind. Von Hemipteren seien angeführt: *Hydrometra lacustris* (Wilke 1907), *H. paludum*, vielleicht auch *Euschistus* (Montgomery 1911); von andern Insekten: *Silpha carinata* (Holmgren 1902), *Dytiscus* (Schaefer 1907), *Oedipoda* (Buchner 1909) und *Locusta viridissima* (Otte 1907). Die Ableitung der Mitochondrien aus dem Chromatin des Kernes könnte hiernach nur für die in den Spermatocyten auftretenden Mitochondrien Geltung haben, und zwar wiederum nur für denjenigen Teil derselben, der während des Bukettstadiums oder nach demselben vorhanden ist. Die vor diesem Stadium auftretenden bieten der Theorie schon größere Schwierigkeiten. Ebenso große Schwierigkeiten treten dann dieser Theorie gegenüber auf, wenn gar kein Bukettstadium vorhanden ist und die Kernmembran durch die ganze Spermatocytengeneration hindurch gut erhalten ist. Und das trifft sowohl für *Hydrometra lacustris* als auch für *H. paludum* zu. Man vergleiche die Abbildungen untereinander und wird stets Mitochondrien und Chromatinlager durch eine deutliche Membran getrennt finden.

Schon 1907 habe ich aus einem andern Grunde die Goldschmidtsche Theorie als auf *Hydrometra lucastris* nicht anwendbar bezeichnen müssen. Bei diesem Objekt treten nämlich die Mitochondrien, hauptsächlich während der Reifungsteilungen, in solch großen Massen auf, daß es mir höchst unwahrscheinlich erschien, sie als Chromatin nuclearen Ursprungs zu betrachten. Die vorliegenden Beobachtungen über die Mitochondrien

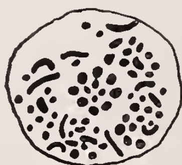
bestärken diese Ansicht in noch höherem Maße. Man betrachte daraufhin noch einmal die Fig. 51 und 67. Diese Figuren stellen nur Schnitte durch Zellen dar, und in diesen Schnitten ist an Mitochondrienmasse mindestens das 3—4fache der Chromatinmasse vorhanden. Für die ganze Zelle kann man mindestens eine sechsmal so große Mitochondrien- als Chromatinmasse annehmen. Erstere aus der letzteren herzuleiten, ist daher undenkbar.

Dazu kommt noch, daß ich für einen Teil der Mitochondrien in dieser Untersuchung gezeigt habe, daß sie im Cytopalsma aus Dotterkugeln entstehen. Hiermit habe ich eine Vermutung bestätigt, welche Montgomery (1911) ausgesprochen hat: »Probably many of the bodies described in spermatocytes as yolk globules will prove to be mitochondria". Damit komme ich auf den Zusammenhang zu sprechen, der zwischen Dotterkugeln, Mitochondrien und Pseudochromosomen besteht. Gross (1906) unterscheidet bei *Pyrrhocoris apterus* Dotterkugeln und Pseudochromosomen und betrachtet sie wahrscheinlich als verschiedene Gebilde, wenigstens deutet er nirgendwo eine Verwandtschaft zwischen beiden an. Ich glaube wohl, daß beide ohne Übergänge nebeneinander bestehen können, halte es aber nach den vorliegenden Ergebnissen für berechtigt, die Dotterkugeln und die Pseudochromosomen zu den mitochondrialen Gebilden zu zählen. Zu demselben Ergebnis muß auch eine Vergleichung der Abbildungen, die Gross (1906) bei *Pyrrhocoris apterus* gegeben hat, mit denjenigen von *Hydrometra lacustris* führen. [Gross (1906), Taf. XIX, Fig. 59—70; Taf. XX, Fig. 71—92. Wilke (1907), Taf. XLII, Fig. 31—51; Taf. XLIII, Fig. 54—66.] Diese Figuren lassen einen Vergleich aus dem Grunde zu, weil sie bei beiden Autoren nach Präparaten gezeichnet sind, welche mit Flemmings Gemisch fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt sind. Bei beiden findet sich um die Spindel herum eine Schicht, welche gegen das Plasma dunkler gefärbt ist. Sobald diese Dotterkugelschicht sich gebildet hat, findet sich bei beiden das sie umgebende Plasma in wabiger Struktur vor. Auch während der beiden Reifungsteilungen verhalten sich diese Schichten gleich, indem sie im Äquator der Zelle eingeschnürt werden und darauf das Chromatin der Tochterzellen wieder umgeben. Beide beteiligen sich schließlich an der Bildung des Nebenkernes. Nur in der Art der Differenzierung unterscheiden sich beide. Während es bei *Pyrrhocoris apterus* niemals zur Bildung von Mitochondrien oder Pseudochromosomen innerhalb derselben kommt, zeigt sie bei *Hydrometra lacustris* eine starke Neigung zur Mitochondrienbildung.

Darauf, daß die Dotterkugeln mitochondriale Gebilde sind, hat schon Meves (1900) hingewiesen. Ferner haben die vorliegenden Unter-

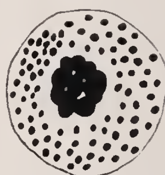
suchungen gezeigt, daß auch die Pseudochromosomen nichts anderes sind als stark angewachsene Mitochondrienkugeln. Eine Verwandtschaft beider in dem Sinne, daß die Pseudochromosomen von *Pyrrhocoris apterus* nur eine Modifikation der Mitochondrien sind, habe ich schon 1907 als möglich erachtet; sie wird ebenso von Duesberg gefordert (1910). Wenn aber eine solche besteht, dann müssen beide während der Genese ähnliches Verhalten zeigen. Das ist in sehr schöner Weise der Fall, wie folgende Abbildungen (Textfig. 6 u. 7) beweisen. Die Bilder sind fast gleich, woraus hervorgeht, daß wir es in beiden Fällen mit denselben Gebilden zu tun haben. Auch die Tatsache, daß sowohl Dotterkugeln als auch Mitochondrien und Pseudochromosomen an dem Aufbau des Nebenkernes teilnehmen (bei *Pyrrhocoris apterus*, *Hydrometra* und *Euschistus*), läßt auf ihre enge Verwandtschaft schließen. —

Textfig. 6.



Äquatorialplatte der 1. Reifungsteilung von *Pyrrhocoris apterus*.

Textfig. 7.



Äquatorialplatte der 2. Reifungsteilung von *Hydrometra paludum*.

Nun wird man vom gegnerischen Standpunkte aus einwerfen, daß gerade die beobachtete Einschnürung und Teilung der Mitochondrien auf eine Verwandtschaft derselben mit dem Chromatin des Kernes hindeute, das ja in der Form von Chromosomen genau dieselbe Erscheinung bietet. Dagegen ist zu sagen, daß die Teilung des Chromatins unter dem Einflusse der Centriolen geschieht, die Teilung der Mitochondrien (Pseudochromosomen) aber ganz unabhängig von diesen vor sich geht, wie die Fig. 41 und 47 beweisen. Außerdem zeigt ja auch das Cytoplasma selbst Einschnürungen, und auch bei denjenigen Centrosomen, welche cytoplasmatischer Herkunft sind, hat man Teilungsvorgänge beobachtet. Ferner wird man der Lage der fadenförmigen Mitochondrien in den Spermatogonien, um den Kern herum und der Kernmembran dicht angelagert, größere Bedeutung zuschreiben und hieraus eine Verwandtschaft mit dem Kerne ableiten. Die Möglichkeit einer solchen wird von Montgomery (1911) bei *Euschistus* zugegeben, wo die Mitochondrien stets an einem besonderen Pole des Kernes entstehen, dem im Innern des Kernes eine Chromatinschicht angelagert ist. Montgomery denkt sich dann

die Entstehung der Mitochondrien so, daß chemische Prozesse zwischen Kern und Cytoplasma möglich sind, oder daß der Kern direkt Fermente an das Cytoplasma abgibt, welche dann die Entstehung der Mitochondrien bewirken. Ich glaube aber, daß die Erklärung der Lage der Mitochondrien solch komplizierter Annahmen gar nicht bedarf, sondern auf rein physikalischem Wege geschehen kann. Für die Mitochondrien dürfen wir, wie aus ihrem ganzen Verhalten hervorgeht, eine feste Konsistenz nicht annehmen. Die Annahme eines flüssigen oder zähflüssigen Zustandes wird ihrem Verhalten am besten entsprechen. Dann ist es aber sehr einleuchtend, daß ihre Bildung an der ihrer Zusammensetzung nach sicher festeren Kernwand vor sich geht.

Über das plötzliche Verschwinden der Mitochondrien nach der zweiten Reifungstellung dürfen wir uns nicht wundern; es ist auch von Bouin (1905) bei *Scolopendra* beobachtet, wenn die von ihm beschriebenen Gebilde Mitochondrien sind, was Duesberg (1910) nach ihrem Verhalten annimmt. Hier verschwinden sie in der Prophase der ersten Reifungsteilung. Auch Gross (1906) nimmt für die Pseudochromosomen von *Pyrrhocoris apterus* Auflösungsvermögen an. Eine Auflösung in der jungen Spermatide braucht bei den Hemipteren aber nicht immer zu erfolgen; hierüber belehrt uns Montgomery (1911) an *Euschistus*. Hier bleiben die Mitochondrien in den noch zusammenhängenden Spermatiden dauernd sichtbar; man kann deshalb ihre Vereinigung zum Nebenkern sehr gut beobachten. —

Zum Schlusse muß ich noch auf eine Arbeit von Fauré-Fremiet (1910) eingehen, dessen Befunde zu den vorliegenden in einem höchst interessanten Verhältnisse stehen. Dieser Autor fand bei *Carchesium polypinum* die Mitochondrien zunächst in Kugelgestalt, dann dieselben Gebilde als Stäbchen, welche in der Mitte eingeschnürt sind (Hantelform) und endlich wieder als nebeneinanderliegende kleine, runde Kugeln. Aus diesen Stadien schließt er auf eine Vermehrung der Mitochondrien durch Teilung. Dieser Schluß, den ich aus ähnlichen Figuren auch bei *Hydrometra paludum* gezogen habe, geschieht nach meiner Meinung mit Recht; es ist genau derselbe, den wir bei Teilungsfiguren von Zellen, Kernen und Chromosomen machen. Fauré-Fremiet konnte dabei gleichzeitig einen Synchronismus zwischen den Teilungsfiguren der Mitochondrien und des Mikronucleus feststellen. Während nämlich die Mitochondrien Kugelform haben, befindet sich der Mikronucleus auf dem Stadium der Äquatorialplatte; bei Hantelform der Mitochondrien liegen die Chromosomen an den Enden des spindelförmigen Kernes; bei fast vollendeter Teilung sind die Mitochondrien ebenfalls geteilt. Dieser Synchronismus besteht bei *Hydro-*

metra nicht; denn die Vermehrungsteilungen der Mitochondrien finden hier zu einer Zeit statt, wo die Chromosomen sich noch in der Umbildung zu Tetraden befinden. An eine Abhängigkeit der Mitochondrien von den Chromosomen, worauf der Synchronismus der Teilungen bei *Carchesium* schließlich führen könnte, ist bei *Hydrometra* überhaupt nicht zu denken.

Aus dem analogen Verhalten der Mitochondrien bei zwei systematisch so verschiedenen Vertretern (Protozoen und Insekten) darf wohl der Schluß gezogen werden, daß den Erscheinungen große Bedeutung zukommt.

Düsseldorf, August 1912.

Literaturverzeichnis.

Benda, C. (1902.) Die Mitochondria. Ergebn. der Anat. u. Entwicklungsgesch., herausgeg. von Bonnet u. Merkel. Bd. XII.

Bouin, P. (1905.) Ergastoplasme, Pseudochromosomes et Mitochondria. A propos des formations ergastoplasmiques des cellules séminales chez Scolopendra cingulata. Archives de Zool. expérimentale. 4. s. T. III.

Braun, H. (1909.) Die specifischen Chromosomenzahlen der einheimischen Arten der Gattung Cyclops. Arch. f. Zellf. Bd. III.

Buchner, P. (1909.) Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellf. Bd. III.

—— (1910.) Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Arch. f. Zellf. Bd. V.

Dingler, M. (1910.) Über die Spermatogenese des Dicrocoelium lanceatum Stil. et Hass. (Distomum lanceolatum). Arch. f. Zellf. Bd. IV.

Duesberg, J. (1910.) Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Dumez, R. (1902.) Rapports du cytoplasme et du noyau dans l'œuf de la Cytherea chione L. La Cellule. T. XIX.

Fauré-Fremiet, M. E. (1910.) Etude sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules. Arch. d'Anatomie micr. Bd. XI.

Fick, R. (1907.) Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothese. Ergebn. d. Anat. u. Entw., herausgeg. von Bonnet u. Merkel. Bd. XVI.

—— (1908.) Zur Konjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellf. Bd. I.

Foot, K. und E. C. Strobell. (1907.) The accessory chromosome of Anasa tristis. Biol. Bull. Bd. XII.

Gérard, P. (1909). Recherches sur la Spermatogenèse chez Stenobothrus biguttulus. Arch. d. Biol. T. XXIV.

Giglio-Tos, E. und L. Granata. (1908.) I mitocondri nelle cellule seminali maschili di Pamphagus marmoratus. Biologica. Vol. II.

Goldschmidt, R. (1904.) Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. XXI.

—— (1908). Ist eine parallele Chromosomenkonjugation bewiesen? Arch. f. Zellf. Bd. I.

Goldschmidt, R. und Popoff, M. (1907.) Die Karyokinese der Protozoen und der Chromidialapparat der Protozoen- und Metazoenzelle. Arch. f. Protistenk. Bd. VIII.

Gross, J. (1904.) Die Spermatogenese von Syromastes marginatus L. Zool. Jahrb. Bd. XX.

—— (1906.) Die Spermatogenese von Pyrrhocoris apterus L. Zool. Jahrb. Bd. XXIII.

—— (1912.) Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung bei Insekten. Zool. Jahrb. Bd. XXXII.

Häcker, V. (1907.) Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergebn. u. Fortschr. der Zool. Bd. I.

—— (1909.) Über Chromosomenbildung der Aulacanthiden. Zur Kritik der Hypothese von der Parallelkonjugation. Zool. Anz. Bd. XXXIV.

Heidenhain, H. (1907.) Plasma und Zelle. Jena.

Henneguy (1904.) Les Insectes. Paris.

Holmgren, N. (1902.) Über den Bau der Hoden und die Spermatogenese von Silpha carinata. Anat. Anz. Bd. XXII.

Janssens, F. A. (1905.) Evolution des auxocytes mâles du Batrachoseps attenuatus. La Cellule. T. XXII.

Jörgensen, M. (1910.) Beiträge zur Kenntnis der Eibildung, Reifung, Befruchtung und Furchung bei Schwämmen (Syconen). Arch. f. Zellf. Bd. IV.

Korotneff, A. (1909.) Mitochondrien, Chondriomiten und Faserepithel der Tricladen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIV.

Meves, Fr. (1900.) Über den von La Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI.

—— (1908.) Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII.

—— (1908.) Es gibt keine Parallelkonjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellf. Bd. I.

Meves, Fr. und Duesberg, J. (1908.) Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse (Vespa crabro). Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXI.

Montgomery, T. H. (1898.) The spermatogenesis of Pentatoma up to the formation of the spermatid. Zool. Jahrb. Bd. XII.

—— (1906.) Chromosomes in the spermatogenesis of the Hemiptera Heteroptera. Trans. Amer. Phil. Soc. N. S. Vol. XXI.

—— (1910.) On the dimegalous sperm and chromosomal variation of Euschistus. Arch. f. Zellf. Bd. V.

—— (1911.) The Spermatogenesis of an Hemipteron, Euschistus. The Journal of Morphology. Vol. XXII.

Otte, H. (1907.) Samenreifung und Samenbildung bei Locusta viridissima. Zool. Jahrb. Bd. XXIV.

Pantel, J. et de Sinéty, R. (1906.) Les cellules de la lignée mâle chez le Notonecta glanca L. La Cellule. T. XXIII.

Popoff, M. (1907.) Eibildung von Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Schäfer, F. (1907.) Die Spermatogenese von Dytiscus. Zool. Jahrb. Bd. XXIII.
Schreiner, A. und K. E. (1905.) Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Myxine glutinosa. Arch. de Biol. T. XXI.
Wassilieff, A. (1907.) Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.
Wilke, G. (1907.) Die Spermatogenese von Hydrometra lacustris L. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLII.
—— (1912.) Beitrag zur Kenntnis der Chromatinreduktion der Hemipteren. Zool. Anz. Bd. XXXVII.
Wilson, E. B. (1905.) Studies on chromosomes. I. The behavior of the idiochromosomes in Hemiptera. Journ. exper. Zool. Vol. II.
—— (1905.) Idem. II. The paired mikrochromosomes, idiochromosomes and heterotropic chromosomes in Hemiptera. Ibid. Vol. II.
—— (1906.) Idem. III. The sexual differences of the chromosome groups in Hemiptera, with some considerations on the determination and inheritance of sex. Ibid. Vol. III.
—— (1907.) Note on the Chromosome-groups of Metapodius and Banasa. Biol. Bull. Bd. XII.
—— (1907.) The case of Anasa tristis. Science. N. S. Vol. XXV.
—— (1911.) The sex chromosomes. Arch. f. mikr. Anatomie. Bd. LXXVII.
Ziegler, H. E. (1908.) Die Erklärung der Mendelschen Regel. Zool. Anzeiger. Bd. XXXIII.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel XXI.

Alle Figuren beziehen sich auf *Hydrometra paludum* Fabr. (Färbung: Eisenhämatoxylin).

Fig. 1. Spermatogonie: Verteilung des Chromatins und Sammlung desselben in dem Chromosomenballen.

Fig. 2. Spermatogonie: Auftreten des Chromatinklümpchens.

Fig. 3. Spermatogonie: Wachstum der Chromatinlager; Mitochondrien.

Fig. 4. Spermatogonie: Diplosom (accessorisches Chromosom).

Fig. 5. Spermatogonie: Fadenförmige Mitochondrien in einer Zone um den Kern.

Fig. 6. Metaphase der Vermehrungsteilung: Klümpchenform der Spermatogonientetrade.

Fig. 7. Anaphase der Vermehrungsteilung; Ringform der Spermatogonientetrade.

Fig. 8—11. Anaphase der Vermehrungsteilung mit Spermatogonientetrade.

Fig. 12. Anaphase der Vermehrungsteilung: Verschwinden der Spermatogonientetrade.

Fig. 13. Vermehrungsteilung: größte Auflockerung des Chromosomenballens.

Fig. 14. Vermehrungsteilung: Regeneration der Kernmembran.

Fig. 15 u. 16. Junge Spermatocyten.

Fig. 17. Ringform der Spermatogonientetrade.

Fig. 18. Aufgelockerte Ringform der Spermatogonientetrade.

Fig. 19. Ellipsenform der Spermatogonientetrade.
Fig. 20. Übergang der Ellipsenform in die Tetradenform.
Fig. 21. Ausgebildete Spermatogonientetrade.
Fig. 22. Junge Spermatocyte: Haubenförmige Anordnung der Mitochondrien.
Fig. 23. Junge Spermatocyte: Zonenförmige Anordnung der Mitochondrien.
Fig. 24. Auflösen der Spermatogonientetrade in der Klümpchenform.
Fig. 25. Auflösen der Spermatogonientetrade in der Ringform.
Fig. 26. Auflösen der Spermatogonientetrade in der Ellipsenform.
Fig. 27. Auflösen der Spermatogonientetrade in der Vierergruppenform.
Fig. 28. Spermatocyte: Verteilung der Mitochondrien im Plasma.
Fig. 29. Zellkuppe mit fadenförmigen Mitochondrien.
Fig. 30. Spermatocyte: punktförmige Zerstreuung des Chromatins.
Fig. 31. Spermatocyte: Ordnung der Chromatinkörnchen zu Fäden.
Fig. 32. Spermatocyte: Wachstum der Fäden.
Fig. 33. Spermatocyte mit nahezu ausgebildeten Fäden.
Fig. 34. Spermatocyte mit ausgebildeten Fäden.
Fig. 35. Spermatocyte mit parallel konjugierten Fäden.
Fig. 36 u. 37. Spermatocyte: Verschmelzung der Enden der Fäden.
Fig. 38 u. 39. Spermatocyte: Knicken der Fäden; Dotterkugeln; Entstehung der Mitochondrien in denselben; Vermehrung der Mitochondrien durch Teilung.

Tafel XXII.

Fig. 40, 43 u. 44. Spermatocyte: punktförmige Mitochondrien.
Fig. 41, 42, 45. Spermatocyte: Übergang der Schleifen in die Tetradenform.
Fig. 46. Spermatocyte I. Ordnung mit Mitochondrien und Chondriokonten.
Fig. 47. Spermatocyte I. Ordnung kurz vor Eintritt der Tetraden in die Äquatorialplatte.
Fig. 48. Spermatocyte I. Ordnung: Größenunterschiede der Tetraden.
Fig. 49. Spermatocyte I. Ordnung mit allen Tetraden.
Fig. 50. Spermatocyte I. Ordnung: Anordnung der Mitochondrien und Pseudochromosomen am Pole.
Fig. 51. Spermatocyte I. Ordnung: Eintritt der Tetraden in die Äquatorialplatte.
Fig. 52—57. Äquatorialplatten der ersten Reifungsteilung mit 12 Tetraden.
Fig. 58. Äquatorialplatte der ersten Reifungsteilung mit 13 Tetraden.
Fig. 59. Erste Reifungsteilung, Seitenansicht.
Fig. 60. Erste Reifungsteilung, späte Anaphase.
Fig. 61. Spermatocyte II. Ordnung.
Fig. 62. Zweite Reifungsteilung, Seitenansicht.
Fig. 63. Zweite Reifungsteilung; Mitochondrien (Pseudochromosomen).
Fig. 64. Äquatorialplatte der zweiten Reifungsteilung.
Fig. 65. Polansicht der Zelle mit Mitochondrien (Pseudochromosomen).
Fig. 66. Zweite Reifungsteilung, späte Anaphase.
Fig. 67. Junge Spermatide mit Pseudochromosomen.
Fig. 68. Spermatide mit regenerierter Kernmembran; Auftauchen der Mitochondrien als Nebenkern.
Fig. 69. Spermatide: fadenförmige Struktur des Nebenkernes.
Fig. 70—72. Spermatidenkern mit Absonderung eines Chromosoms.

Fig. 73. Spermatide mit abgesonderter Lage eines Chromosoms und fadenförmigem Nebenkern.

Fig. 74. Spermatide mit schalenförmigem Nebenkern.

Fig. 75. Spermatide: Auflockerung der Chromosomen.

Fig. 76. Spermatide: Verteilung des Chromatins; Beginn der Schalenbildung im Nebenkern.

Fig. 77. Spermatide: labyrinthartige Struktur des Nebenkernes.

Fig. 78. Nebenkern auf dem Schalenstadium.

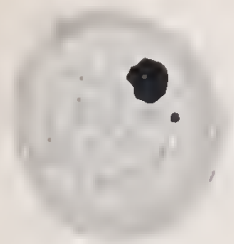
Fig. 79 u. 80. Spermatide: Streckung des Nebenkernes.

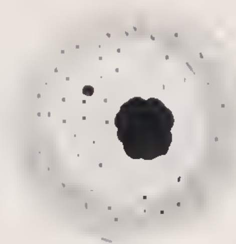
Fig. 81 u. 82. Ausbildung der Spermatozoenform.

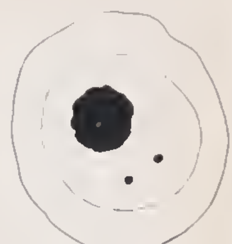
Fig. 83 u. 84. Spermatozoen.




Fig. 1


Fig. 2


Fig. 3


Fig. 4

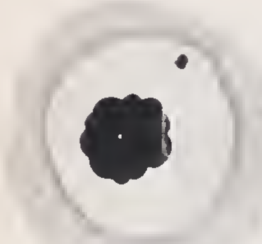

Fig. 5


Fig. 6


Fig. 7

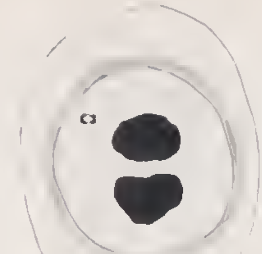
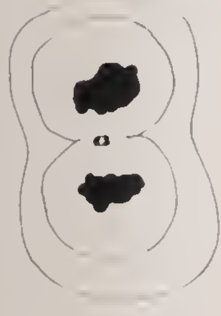

Fig. 8


Fig. 9


Fig. 10

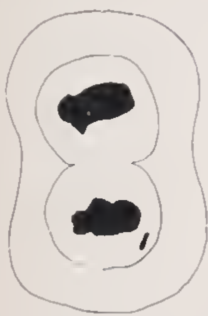

Fig. 11


Fig. 12

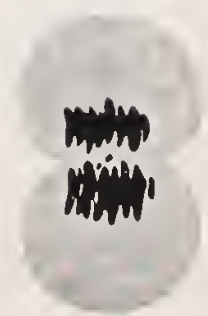

Fig. 13


Fig. 14


Fig. 15

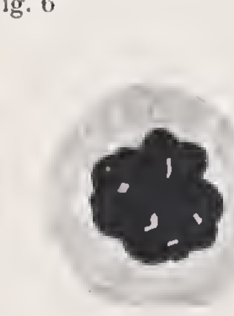
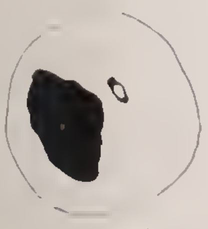

Fig. 16


Fig. 17


Fig. 18


Fig. 19


Fig. 20

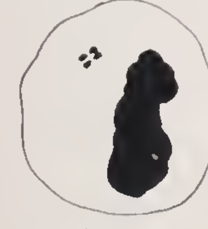
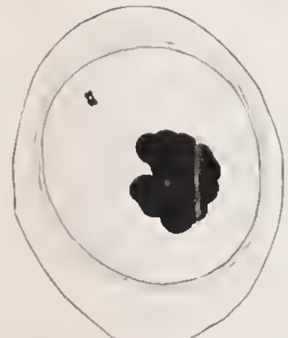

Fig. 21


Fig. 22


Fig. 23

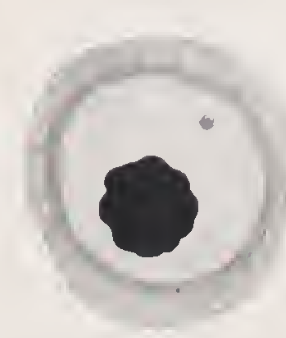

Fig. 24


Fig. 25


Fig. 26

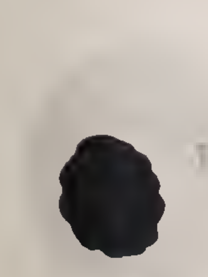
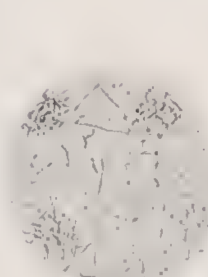
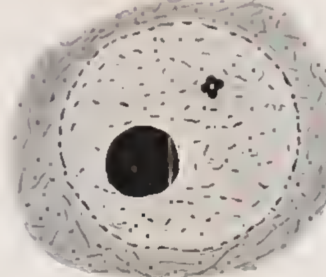

Fig. 27


Fig. 28


Fig. 29


Fig. 30

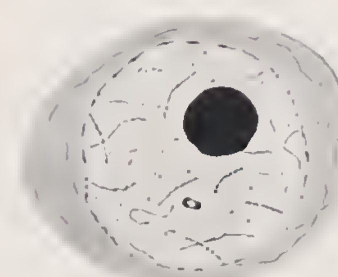

Fig. 31


Fig. 32


Fig. 33

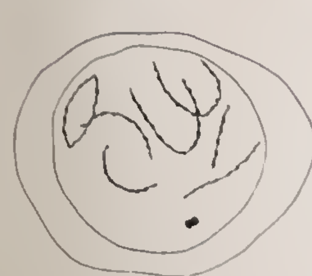
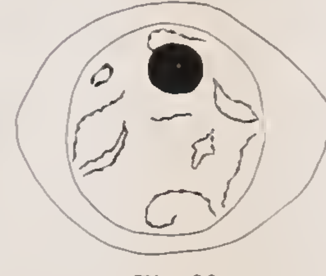

Fig. 34


Fig. 35


Fig. 36

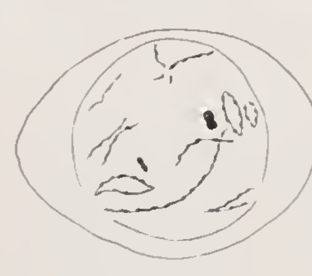
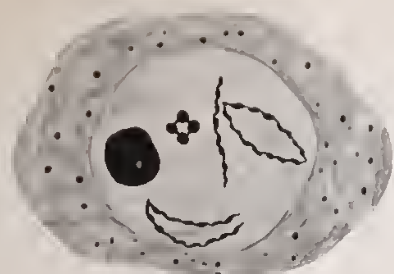

Fig. 37


Fig. 38


Fig. 39

Wilke, nach der Nat. gez.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.


Fig. 40

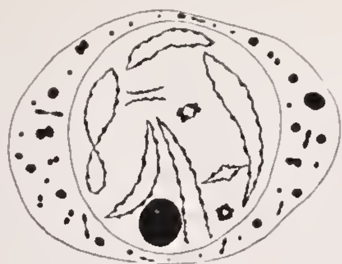
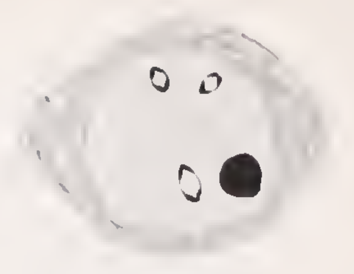
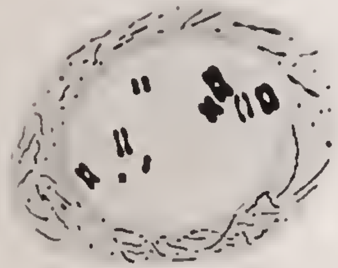

Fig. 41


Fig. 42


Fig. 43


Fig. 44


Fig. 45


Fig. 46

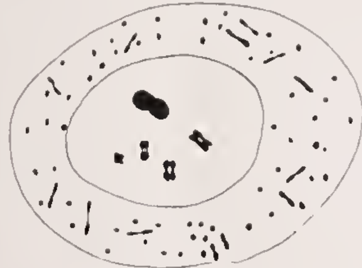

Fig. 47

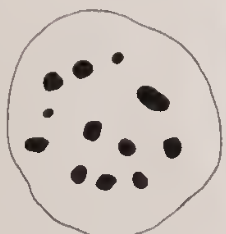

Fig. 48

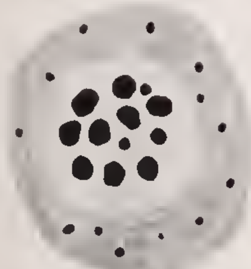

Fig. 49

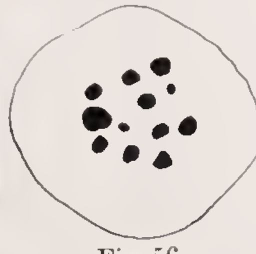

Fig. 50

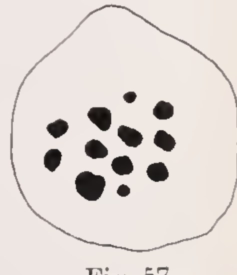

Fig. 51


Fig. 52


Fig. 54


Fig. 55


Fig. 56


Fig. 57

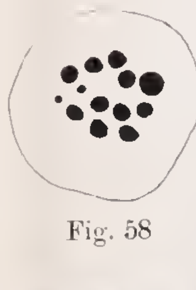
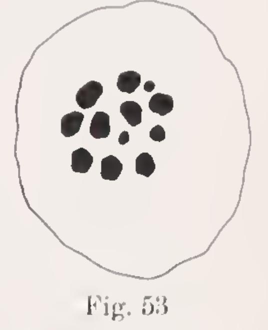

Fig. 58


Fig. 59


Fig. 60


Fig. 61


Fig. 62


Fig. 53

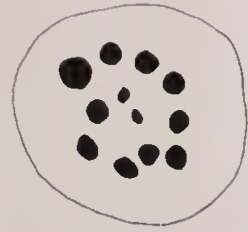

Fig. 64


Fig. 65


Fig. 66

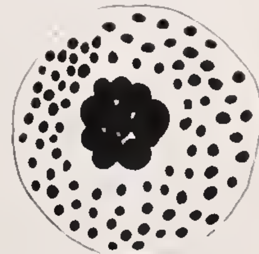

Fig. 67


Fig. 68


Fig. 69

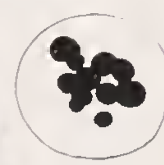

Fig. 70


Fig. 71

Fig. 72

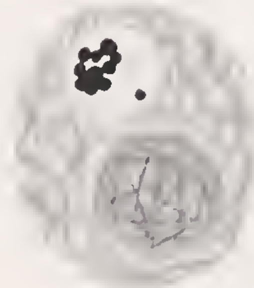

Fig. 73


Fig. 63


Fig. 78


Fig. 75


Fig. 76

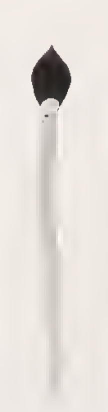

Fig. 77


Fig. 79


Fig. 80


Fig. 81


Fig. 82


Fig. 83

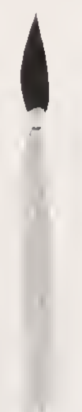

Fig. 84


Fig. 74

Wilke, nach der Nat. gez

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den Prosobranchia. I.

Von

S. Kuschakewitsch.

(Zoologisches Laboratorium der Universität Kiew.)

Mit 26 Textfiguren und Tafel XXIII—XXVI.

Einführung.

Schon durch ältere Arbeiten, so namentlich durch diejenigen von v. SIEBOLD (1836), haben wir den scharf ausgesprochenen Dimorphismus der Spermatozoen bei den Prosobranchia kennen gelernt. Eine ganz besondere Bedeutung erhielt diese Tatsache, nachdem MEVES nachgewiesen hatte, daß dieser Dimorphismus sich auch auf die Kerne dieser Spermatozoen, und zwar auf deren Chromatin erstreckt. Ein Teil der Spermatozoen weist eine durchaus normale Quantität desselben auf (eupyrene Spermatozoen nach WALDEYER), während ein andrer Teil nur sehr wenig Chromatin enthält, oder desselben gänzlich entbehrt (oligopyrene oder apyrene Spermatozoen nach WALDEYER). Im nachstehenden will ich die oligopyrenen und apyrenen Samenkörper unter dem einen Namen der atypischen Spermatozoen zusammenfassen. Ungeachtet des ungeheuren Interesses, das die Spermatozoen der zweiten Kategorie sowohl in morphologischer, wie auch in biologischer Hinsicht bieten, sind dieselben noch vor kurzem doch auffallend wenig untersucht gewesen. Allerdings besitzen wir ausgezeichnete Arbeiten von MEVES (1900, 1902) über die Spermatogenese bei *Paludina* und die interessanten Aufsätze von STEPHAN (1903a) und LAMS (1910) über die Spermatogenese bei *Murex*, durch welche die Befunde des deutschen Autors im allgemeinen bestätigt werden. Berücksichtigen wir indessen die ungewöhnliche Mannigfaltigkeit im Bau der reifen atypischen Samenkörper verschiedener Vertreter der Prosobranchia, so wird uns klar, daß die Schlußfolgerungen der genannten Autoren sich nicht verallgemeinern lassen, und daß das Studium der

Spermatogenese bei einer möglichst großen Anzahl von Formen mit zweierlei Samenkörpern außerordentlich wünschenswert erscheint. Ich habe meinen Aufenthalt an der Neapeler Zoologischen Station im Frühjahr (April und Mai) der Jahre 1909 und 1910 dazu verwendet, um die atypischen Spermatozoen aller mir zugänglichen Vertreter der Prosobranchia kennen zu lernen, welche um diese Zeit reife Geschlechtsprodukte besaßen, und um das nötige Material für spermatogenetische Untersuchungen zu fixieren.

Das Studium und die Vergleichung der verschiedenen atypischen Spermatozoen aus der erwähnten Gruppe miteinander führt uns zu dem Schlusse, daß dieselben in einer Reihe angeordnet werden können, deren einzelne Glieder einen verschiedenen Grad der Atypie aufweisen. So treten z. B. die oligopyrenen und apyrenen Spermatozoen von *Paludina*, *Neritina*, *Murex*, *Aporrhais*, *Tritonium* in Gestalt wurmförmiger, äußerst beweglicher Gebilde auf, die, wenigstens ihrer äußeren Gestalt nach, wohl kaum der Vorstellung widersprechen, welche wir von den Spermatozoen überhaupt haben. Die apyrenen Samenkörperchen von *Marsenia* besitzen zwar noch eine wurmförmige Gestalt, legen aber eine beträchtlich geringere Beweglichkeit an den Tag. Ihnen schließen sich die spindelförmigen, ganz oder fast ganz unbeweglichen atypischen Spermatozoen von *Nassa*, *Fusus*, *Columbella*, *Euthria* und die konischen, mit einem Härchenbüschel versehenen Samenkörperchen von *Turritella* und *Cerithium* an. Den Beschluß unsrer Reihe werden die unbeweglichen, enorm großen Spermatozoen von *Conus* und *Vermetus* bilden müssen.

Da nur die Entwicklung der ersten Glieder dieser Reihe genauer untersucht war, so habe ich es mir zur Aufgabe gemacht, die gesamte Reihe vergleichend zu untersuchen, wobei ich mit deren Endgliedern den Anfang machte. Die vorliegende Arbeit behandelt denn auch die Entwicklungsgeschichte der Samenkörper von *Conus* und *Vermetus*.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, der Administration der Zoologischen Station Neapel für das mir so oft erwiesene liebenswürdige Entgegenkommen meinen innigsten Dank auch hier auszusprechen.

Historisches.

Die Geschichte der Entstehung und der Weiterentwicklung unsrer Kenntnisse über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente der Prosobranchiaten ist in den Schriften von v. Brunn (1884) und Meves (1902) so ausführlich behandelt worden, daß ich es für angemessen halte,

hier nur die Arbeiten des letztgenannten Forschers als Ausgangspunkt für meine historische Übersicht zu wählen.

Ergänzungsweise ist allerdings noch zu erwähnen, daß SCHIEMENZ eine Beschreibung der atypischen Samenkörper bei *Conus mediterraneus* für die große anatomische Arbeit von BERGH (1895) gegeben hatte. Auf Grund von Beobachtungen an lebendem Material schildert er diese als total unbewegliche plasmatische Massen von verschiedener, hauptsächlich unregelmäßig elliptischer Form, bei denen weder Kopf, noch Geißeln, noch undulierende Membran, noch irgendwelche charakteristische Einschlüsse zu finden sind. In den meisten sieht man eine oder mehrere große Vacuolen.

In seinen klassischen Schriften beschrieb nun MEVES (1900, 1902) außerordentlich klar und überzeugend die Entstehungsweise sowohl der haarförmigen (»eupyrenen«), als auch der wurmförmigen (»oligopyrenen«) Spermatozoen von *Paludina*. Außerdem entdeckte MEVES den Spermiendimorphismus bei einer Anzahl von Lepidopteren, die zu der Familie der Spinner gehören (*Pygaera bucephala, Gastropacha rubi, Bombyx mori, Harpyia vinula*) und untersuchte genau die Spermatogenese bei *Pygaera*, deren atypische Samenkörper sich im fertigen Zustande als ganz chromatinlos erwiesen (»apyrene« Spermatozoen). In seiner ersten Arbeit behandelt dieser Autor hauptsächlich die Frage nach der Herkunft und dem Schicksal des sogenannten »Nebenkerns« (V. LA VALETTE ST. GEORGE) oder der Mitochondrien (des Mitochondrialkörpers) nach BENDAS Nomenklatur. In der zweiten schildert er uns die Entstehungsart der andern Bestandteile der Spermatide und des fertigen Spermiums. Den Inhalt der beiden Arbeiten von MEVES werde ich im Zusammenhang wiedergeben.

Bei *Paludina* bilden die Spermatogonien, welche das gemeinsame Ausgangsmaterial für die beiden Spermienarten darstellen, einen Teil des Keimepithels. Nach einer Reihe von mitotischen Teilungen kommen sie in das Lumen des Drüsenschlauches zu liegen, und hier fangen sie an, sich zu typischen und atypischen Spermatocyten erster Ordnung zu differenzieren. In dem ersten Fall wachsen sie nur wenig, in dem zweiten sehr beträchtlich.

Typische Reihe. Die Spermatocyten machen zwei aufeinanderfolgende Teilungen durch, die keine prinzipiellen Unterschiede gegenüber den somatischen Teilungen aufweisen. Es tritt aber in der Äquatorialplatte nur die halbe Zahl der Chromosomen (7 anstatt 14) auf. Während der beiden Reifeteilungen findet die Längsspaltung der Chromosomen statt. Im Cytoplasma der Spermatocyten erster Ordnung sind die folgen-

den Bildungen zu sehen: 1. das Idiozom mit zwei Centralkörperchen; 2. die Mitochondrien, welche in Form von Körnchen das Idiozom umgeben. Vor der ersten Reifeteilung zerfällt das Idiozom und die Centriolen werden frei. Zur selben Zeit vereinigen sich die Mitochondrien zu ringförmigen Fäden (den Chondriomiten), welche sich in die Länge strecken und parallel der Längsachse der Teilungsspindel zu liegen kommen. Während der ersten Reifeteilung werden die Chondriomiten am Äquator der Zelle halbiert. Dabei bekommen die Tochterzellen von jedem Faden einen Halbring, der sich bald zu einem ganzen Ring schließt. Dasselbe findet auch bei der zweiten Reifeteilung statt.

Während der Spermiogenese bildet der Kern der Spermatide den Kopf des Samenkörpers, die Centralkörperchen den Achsenfaden; die ringförmigen Chondriomiten werden zu vier kugeligen Körperchen, welche die Wurzel des Achsenfadens umgeben, sich in die Länge strecken und der Scheide des Mittelstücks den Ursprung geben.

Die atypischen Spermatocyten erreichen bald eine beträchtliche Größe. Auch hier fragmentiert sich das Idiozom noch vor der ersten Reifeteilung. Die außerordentlich stark gewachsenen Centralkörperchen zerfallen in zwei Anhäufungen von viel kleineren. Unterdessen bildet das Chromatin des Kernes 14 Chromosomen (also die nicht reduzierte Zahl). Die Kernmembran schwindet, es entsteht eine achromatische Spindel, an deren Polen je eine Gruppe von Centralkörperchen liegt. Das Stadium der Äquatorialplatte fehlt, es tritt unmittelbar das Diasterstadium zum Vorschein. Noch bevor die Zelle sich gänzlich geteilt hat, werden die Chromosomen zu kleinen selbständigen bläschenförmigen Kernen, die sich im Plasma verteilen. In der fertigen Spermatocyte zweiter Ordnung erweisen sich nur vier solche Kernchen als lebensfähig, wobei ihre Zahl sich durch Verschmelzung vermindern kann. Die andern zehn fallen einer Degeneration anheim.

Während der zweiten Reifeteilung wandeln sich die vier (oder weniger) Kernchen der Spermatocyte zweiter Ordnung wieder in Chromosomen um (im ganzen vier), die sich der Länge nach spalten. Dem einen von diesen nähern sich zwei (oder mehrere) Centralkörperchen, bemächtigen sich seiner und, indem sie sich nach entgegengesetzten Richtungen zur Peripherie der Zelle begeben, trennen sie die beiden Hälften des gespaltenen Chromosoms. Die übrigen Chromosomen ziehen ungespalten zur Peripherie. Darauf erscheinen die Centralkörperchen an der Zellperipherie verteilt, wobei von jedem achromatische Strahlen ausgehen. Indem die Spermatocyte eine längliche Form annimmt, versammeln sich alle Centralkörperchen zu zwei Gruppen (mit zwölf Körperchen in jeder derselben),

welche an den beiden Polen der Zelle liegen. Zugleich bildet sich eine achromatische Spindel, an deren Enden sich die beiden Hälften des gespaltenen Chromosoms finden. Die übrigen Chromosomen verteilen sich im Plasma und gesellen sich zu dem Haufen der degenerierenden Chromosomen, die nach der ersten Reifeteilung unbenutzt geblieben sind. Dieser ganze Komplex von chromatischen Elementen gelangt bei der zweiten Reifeteilung in eine der beiden Tochterzellen (Spermatide), wo er allmählich verschwindet.

Während der Spermiogenese entsteht ein bläschenförmiges Kernchen aus dem einzigen Chromosom der Spermatide. Später bildet es einen mützenförmigen Ansatz am Vorderende des axialen Faserbündels. Die Fasern des letzteren, die aus Centriolen entstehen, durchziehen den wurmförmigen Körper des reifen Spermatozoons und ragen an seinem Ende frei hervor. Die Mitochondrien geben einem System von Querbälkchen im Achsenbündel den Ursprung.

Die Entwicklung der apyrenen Spermien von *Pygaera* geht nach den Angaben desselben Forschers folgendermaßen vor sich. In der Spermatide bilden die Chromosomen der Tochterplatten der zweiten Reifeteilung eine wechselnde Zahl von kleinen bläschenförmigen Kernen. Das stäbchenförmige Centralkörperchen nähert sich einem Zellpole, und der von ihm ausgehende Faden wächst beträchtlich. Dabei verlängert sich in derselben Richtung auch der ganze Zellkörper. Die Kerne beginnen zu degenerieren und werden augenscheinlich von den Spermatozoiden mit dem Plasmaüberschuß zusammen abgeworfen. Die reifen Spermien sind total chromatinlos.

In einer Reihe von kleinen Aufsätzen, welche den Charakter von vorläufigen Mitteilungen haben, beschäftigt sich STEPHAN (1903, 1903a, 1903b) mit der Entwicklungsgeschichte der atypischen Samenkörper bei einer Anzahl von marinen Prosobranchiaten (*Murex trunculus* und *brandaris*, *Cerithium vulgatum*, *Nassa mutabilis*, *Triton nodifer*). Bei *Murex* (1903a) findet die Spermatogenese in der atypischen Reihe in den Hauptzügen ebenso, wie bei *Paludina* statt, d. h. die beiden Reifeteilungen sind zu beobachten. Auch hier sieht man an den Polen der achromatischen Spindel ganze Gruppen von Centralkörperchen. In den Spermatocyten zweiter Ordnung wandeln sich die Chromosomen der vorhergehenden Karyokinese in kleine selbständige Kerne um, welche sich nachher zwischen den beiden Teilungsprodukten verteilen. In der Spermatide liegen die Centralkörperchen in einer peripherischen Plasmaschicht. Jedes von ihnen gibt einer Geißel den Ursprung, die nach außen wächst. Dann werden diese Körperchen zu Stäbchen (Fäserchen), welche mit ihren

inneren Enden untereinander verschmelzen. Die letzteren gelangen allmählich zur entgegengesetzten Zellenwand. Indem die Spermatide in die Länge wächst, legen sich die Fäserchen dieses konischen Bündels an die Peripherie derselben. Die Geißeln am Hinterende verschwinden, die intraplasmatischen Fäserchen verschmelzen auch mit ihren hinteren Enden. Die kleinen Kerne werden gänzlich resorbiert.

In den Spermatiden von *Cerithium*, in deren Plasma die Chromosomen zerstreut sind, treten die Centralkörperchen plötzlich auf, wobei sie als eine periphere Anhäufung sichtbar werden. Sie geben einer Reihe von frei nach außen hängenden Geißeln den Ursprung und werden selbst zu einem kleinen Faserbündel. Ein Chromosom bleibt länger als alle andern erhalten und kommt am Vorderende des Faserbündels zu liegen. Endlich schwindet das Chromatin gänzlich, während zahlreiche färbbare Körnchen im Cytoplasma erscheinen, die später eine regelmäßige dunkle Schicht um das Achsenbündel des Samenkörpers bilden. Dieser Verfasser hält die atypischen Spermatozoiden von *Cerithium* für eine Übergangsform zwischen den oligopyrenen und apyrenen Spermatozoiden.

Die Spermatogenese in der atypischen Reihe bei *Nassa* und *Triton* (1903) ist derjenigen von *Murex* ähnlich.

In einer Reihe von Untersuchungen hat uns Retzius (1905, 1906, 1909) eine ausführliche Beschreibung der reifen Spermien bei den folgenden Prosobranchiaten gegeben, welche einen Dimorphismus dieser Elemente aufweisen: *Paludina vivipara*, *Aporrhais pes pelicani*, *Turritella terebra*, *Neritina fluviatilis*, *Murex trunculus*, *Fusus despectus*, *Buccinum undatum*, *Nassa reticulata*. Bei *Vermetus* sp.? und *Conus mediterraneus* konnte unser Autor nur die eupyrene Form der Spermatozoiden finden (vgl. v. Brunn, 1894a, und Schiemenz, 1895).

Lams (1910), welcher die Bildung der atypischen Samenkörper von *Murex brandaris* und *M. trunculus* untersuchte, schildert die Sache im ganzen so, wie auch Stephan (1903a), dessen Aufsätze ihm scheinbar unbekannt geblieben sind. Nach Lams werden weder die wurmförmigen Spermien von *Murex trunculus*, noch die spindelförmigen von *M. brandaris* jemals zu apyrenen Gebilden (vgl. die entgegengesetzte Meinung von Stephan, s. oben).

Perroncito (1910) studierte hauptsächlich die Umwandlungen der Plasmabestandteile während der Entwicklung der Samenkörper von *Paludina*. In den Spermatocyten erster Ordnung, welche zu den beiden Typen gehören, unterscheidet er die folgenden Gebilde im Cytoplasma: 1. den Netzapparat von Golgi, 2. die Chondriosomen von Meves und 3. die Mitochondrien von Benda. Auf die Besprechung des ersteren

werde ich bei andrer Gelegenheit zurückkommen. Die »Chondriosomen« der atypischen Spermatozoiden sollen bei der Entstehung des Achsenstranges beteiligt sein, die »Mitochondrien« — die periphere Lage behalten und dem Spiralfaden den Ursprung geben.

Im Jahre 1911 ist meine vorläufige Mitteilung über die Spermatogenese von *Conus mediterraneus* und *Vermetus gigas* erschienen[1]).

Nach der jüngst publizierten vorläufigen Mitteilung von Reinke (1912), welche sich auf die atypische Spermatogenese von *Strombus bituberculatus* bezieht, wandelt sich die Spermatocyte erster Ordnung in das Spermatozoon ohne Reifeteilungen. Das Chromatin des Kernes sammelt sich zu größeren Klumpen, die sich nach der Auflösung der Kernmembran im Cytoplasma zerstreuen. Sie kommen später in Vacuolen zu liegen und werden allmählich resorbiert. Die Bildung des Achsenbündels scheint ähnlich wie bei *Cerithium* (vgl. Stephan, 1913, 1903b) unter Beteiligung der Centralkörperchen vor sich zu gehen. Die großen Eiweißkugeln des reifen Spermatozoons werden als erstarrender Inhalt von Vacuolen gebildet.

Eigene Untersuchungen.

Untersuchungsmethoden.

Als Material für meine Studien dienten mir ausschließlich frisch im Meere gefangene Exemplare von Prosobranchiern. Um das Tier möglichst unbeschädigt von seiner Schale zu befreien, zerbricht man diese letztere am besten durch allmählich ausgeübten Druck vermittels eines Schraubstockes. Durch vorsichtiges Drehen der Schraubenmutter werden die beiden Hälften dieses letzteren einander so lange genähert, bis sich ein Krachen der von ihnen zusammengepreßten Schalenpartie hören läßt. Nun wird die Schale zeitweilig aus dem Schraubstock entfernt und in ein Gefäß mit Seewasser gelegt, worauf die abgebrochenen Schalensplitter mit einer Pinzette entfernt werden. Hierauf wird der nächste Schalenbezirk auf die gleiche Weise entfernt usw. Bei einiger Übung gelingt es ohne Mühe, recht kleine und verhältnismäßig zarte Formen, wie z. B. *Turritella*, auf diese Weise fast ohne jegliche Beschädigung zu »reinigen«. In den meisten Fällen erweist es sich als vorteilhaft, die Zerstückelung der Schale von deren Spitze anzufangen. Bei *Ver-*

[1]) Meine ausführliche Untersuchung, deren Übersetzung die vorliegende Arbeit im großen und ganzen bildet, ist im Juni 1912 als Separatabdruck aus d. Mém. Soc. Naturalistes Kieff in russischer Sprache mit einer deutschen Zusammenfassung erschienen.

metus hingegen empfiehlt es sich, von der Mündung der Schale auszugehen. Hat man die Stelle überschritten, wo der Mantel an der Schale befestigt ist, so durchschneidet man die Retractoren, worauf sich der ganze wurmförmige Körper des Tieres leicht durch Anfassen am Kopfe aus der übrigen Schale herausziehen läßt.

Für das Fixieren habe ich folgende Mischungen verwendet: 1. nach Hermann (stark), 2. nach Flemming (stark), 3. nach Bouin (Pikrinsäure, Formol, Essigsäure), 4. nach Benda (mit darauffolgender Bearbeitung des fixierten Gewebes nach den eignen Angaben des Autors in der »Encyklopädie der mikroskopischen Technik«, 2. Aufl., 1910), 5. nach Carnoy, 6. nach Zenker (mit 1%iger Essigsäure). Die befriedigendsten Resultate erzielte ich mit den Osmiummischungen, ferner mit der Bouinschen Flüssigkeit. Die Fixierung nach Carnoy hatte den Nachteil, daß die auf diese Weise bearbeiteten Gewebe sich nach dem Einschmelzen in Paraffin als sehr brüchig erwiesen. Ganz besonders litten in dieser Beziehung die Hoden von *Vermetus*.

Bei dem Einbetten in Paraffin verwendete ich als Vorharz Chloroform oder Terpineol. Die Dicke der Schnitte schwankte zwischen 7 und 3 μ.

Was die Färbung der Schnitte betrifft, so verwendete ich besonders häufig 1. das Eisenhämatoxylin nach M. Heidenhain. In vielen Fällen leistete eine vorsichtige darauffolgende Nachfärbung mit Lichtgrün unersetzliche Dienste, besonders zur Sichtbarmachung des Idiozoms. Gleichzeitig verwendete ich eine ganze Reihe andrer Färbemethoden, und zwar: 2. die Färbung nach Benda (nach entsprechender Fixierung, siehe oben, hauptsächlich für die Sichtbarmachung der Mitochondrien); 3. Boraxcarmin, Nachfärbung mit Lichtgrün oder Bleu de Lyon; 4. dreifache Färbung nach Flemming (nach Fixierung mit dessen Mischung); 5. dreifache Färbung nach Biondi (gelang nur bei Fixierung nach Carnoy); 6. Delafieldsches Hämatoxylin, Nachfärbung mit Eosin; 7. Magenta-Picroindigocarmin (nach Osmiummischungen und Zenkerscher Flüssigkeit).

Reife Spermatozoen untersuchte ich sowohl im lebenden Zustande in einem Tropfen Seewasser, wie auch auf Strichpräparaten, nach Fixierung und Färbung. Die Anfertigung der Strichpräparate von Samenflüssigkeit solcher Prosobranchia, welche zweierlei Arten von Spermatozoen besitzen, erfordert besondere Vorsichtsmaßregeln.

Es handelt sich nämlich darum, daß die großen und zarten atypischen Samenkörper einiger Formen bei dem Auftragen der Samenflüssigkeit auf das Deckgläschen selbst dann, wenn der weichste Pinsel verwendet

wird, außerordentlich leicht zerdrückt oder deformiert werden, oder aber alle zwischen den Haaren des Pinsels eingeklemmt bleiben. Nur durch diesen Umstand kann ich mir erklären, daß ein so erfahrener Beobachter wie RETZIUS (1906), auf seinen Strichpräparaten die enorm großen apyrenen Spermatozoen von *Conus* und *Vermetus* nicht entdecken konnte. In andern Fällen hat dieser Autor scheinbar verunstaltete Spermien vor Augen gehabt (vgl. z. B. seine Fig. 3 u. 4, Taf. III, atypische Spermatozoen von *Aporrhais*).

Die zuverlässigste Methode für die Anfertigung von Strichpräparaten besteht in folgendem. Das Deckgläschen wird zuvor in mit Salzsäure stark angesäuertem Alkohol gespült und dann abgetrocknet. Hierauf wird mit einem nassen Pinsel etwas Sperma aufgenommen, welches mit Seewasser etwas verdünnt worden ist. Sodann wird dieses Sperma in der Weise auf das Deckgläschen aufgetragen, daß der Pinsel selbst dessen Oberfläche nach Möglichkeit nicht berührt. Das Deckgläschen wird mit dem Strich nach unten auf die Oberfläche der Fixierungsflüssigkeit gelegt. Wenn das Gläschen vollständig rein war und von dem Wasser gut benetzt wurde, so bleibt dabei auf seiner Oberfläche eine genügende Menge vortrefflich erhaltener atypischer Spermatozoen haften.

Um größere Mengen von Deckgläschen mit aufgestrichenem Sperma aufzubewahren und zu transportieren, ohne die Präparate Beschädigungen auszusetzen, verfuhr ich folgendermaßen. Nach dem Fixieren und Wässern (wo dies erforderlich war) wurden die Gläschen durch Alkohol verschiedener Stärke bis zu absolutem geführt und sodann in eine Mischung von Alkohol und Äther (zu gleichen Teilen) verbracht. Hierauf wurden sie auf kurze Zeit in vertikaler Lage in eine Celloidinlösung getaucht und dann, nachdem der Überschuß dieses letzteren abgeflossen war, in 70%igen Alkohol gelegt. Sodann wurden ganze Häufchen von Gläschen mit gleichartigen, von einer erhärteten Celloidinhülle bekleideten Strichpräparaten in ein Papier gewickelt, welches mit einer Aufschrift versehen war, und diese Päckchen in ein Glasgefäß mit 70—75%igem Alkohol gelegt, wo sie dann aufbewahrt wurden. Vor dem Färben der Strichpräparate wurde die Celloidinschicht in einer Mischung von Alkohol und Äther entfernt und die Gläschen allmählich über Alkohol in destilliertes Wasser übergeführt.

Außer den obenerwähnten Fixierungs- und Färbungsmethoden wurde für Strichpräparate auch noch die Fixierung in 1%iger Osmiumsäure und die Färbung mit 1%igem Fuchsin angewendet, mit darauffolgendem Einschluß der Strichpräparate in starke Lösung von essigsaurem Kali (nach RETZIUS).

Entwicklung der Samenkörper bei Conus mediterraneus.

Das Keimepithel.

Das Keimepithel von *Conus* stellt während der Jahreszeit, wo mein Material konserviert worden war, auf dem größten Teil seiner Ausdehnung eine dünne Protoplasmaschicht dar, welche hier und da in die Höhlung der Drüse hereinragende und der Anordnung kleiner länglicher Kerne entsprechende Verdickungen bildet (Fig. 2). Im Innern dieser Kerne liegen die Chromatinkörnchen längs eines grobmaschigen Lininnetzes zerstreut. Fast immer sind mehrere Nucleolen von verschiedener Größe vorhanden. Zwischen den Plasmaterritorien, welche den einzelnen Kernen entsprechen, lassen sich keine Grenzen nachweisen. Stellenweise, meist in der Nähe der Kerne, bemerkt man (nach Bearbeitung mit Osmiummischungen) ansehnliche Gruppen bräunlicher Körnchen.

An gewissen Stellen hat das Keimepithel indessen ein etwas andres Aussehen. Seine Dicke nimmt rasch zu und wir finden hier ein großes Element oder eine ganze Gruppe derselben (Fig. 3). Die recht beträchtlichen Kerne dieser Elemente fallen selbst bei schwachen Vergrößerungen durch den Umstand sofort in die Augen, daß ihr gesamtes Chromatin zu kompakten Körperchen zusammengeballt ist. Diese letzteren haben bald das Aussehen von regelmäßigen Kügelchen, die nach Benda sehr schwach gefärbt werden und mit Körnchen einer dunkleren Substanz besetzt sind (Fig. 3, links); bald sind sie dagegen in die Länge gestreckt und haben das Aussehen kurzer dicker Stäbchen (Fig. 3, rechts). Einem jeden Kern entspricht ein scharf konturierter cytoplasmatischer Körper, welcher entweder von runder Gestalt ist oder aber von der der bindegewebigen Hülle des Drüsenganges anliegenden Seite abgeplattet erscheint. Bei der Bearbeitung nach Benda bemerkt man in dem Plasma der uns beschäftigenden Elemente eine variable Menge von Körnern, welche nach Kristallviolett eine violette Färbung annehmen und höchstwahrscheinlich Chondriosome darstellen (Meves).

Was nun die Bedeutung der soeben beschriebenen zwei Kategorien von Elementen des Keimepithels betrifft, so werden wir nach Analogie mit andern Mollusken, speziell mit *Vermetus*, vom dem später die Rede sein wird, wohl kaum irre gehen, wenn wir in den ersteren dieser Elemente indifferente Zellen erblicken, aus denen sowohl die Spermatogonien wie auch die Basalzellen (Nährzellen) hervorgehen; in den zweiten dagegen diese letzteren.

In den Samenschläuchen der von mir konservierten Tiere habe ich weder Teilungen der Spermatogonien, noch Zellelemente angetroffen,

welche man mit Sicherheit für ruhende Spermatogonien hätte ansehen können. Augenscheinlich geht die Bildung der Spermatogonien und deren Vermehrung bei *Conus* nur zu einer gewissen Periode des Jahres vor sich. Den Ausgangspunkt für das Studium der Spermatogenese in der typischen wie auch in der atypischen Reihe bildeten für mich die Spermatocyten erster Ordnung.

I. Die typische Reihe (Fig. 5—53).

Die Wachstums- und Reifungsperiode Fig. (5—27).

Eine junge Spermatocyte erster Ordnung (Fig. 5) stellt eine kleine längliche Zelle dar, deren einer Pol meist in Gestalt eines zugespitzten Stielchens ausgezogen ist. Die Spitze dieses letzteren wird nach BENDA gänzlich intensiv violett gefärbt. Höchstwahrscheinlich entspricht diese Stelle dem »Restkörper« (einem Teil der Chromatinspindel) der letzten Teilung der Spermatogonien. Fast der gesamte Körper einer solchen Spermatocyte ist von einem ovalen Kerne eingenommen. Das Chromatin des letzteren liegt in Gestalt kleiner Körnchen in dem Lininnetz zerstreut; Nucleolen sind nicht vorhanden. Das Cytoplasma umhüllt den Kern in Gestalt einer dünnen, kaum bemerkbaren Schicht, welche nur an der Basis des obenerwähnten Stielchens etwas an Dicke zunimmt (Fig. 5). An einigen Stellen kann man bei aufmerksamem Studium der Zelle einzelne violett gefärbte Körnchen (Mitochondrien) bemerken, welche zwischen der Kern- und der Zellwand eingeklemmt liegen. Allmählich rundet sich die Gestalt der Spermatocyten ab, und die Menge ihres Cytoplasmas nimmt zu, wobei der Kern fast immer eine exzentrische Lage einnimmt, die Peripherie der Zelle mit dem einen Pole beinahe berührend (Fig. 6). Das Chromatin ist bis jetzt noch immer gleichmäßig über das Liningerüst zerstreut. Die Mitochondrien haben das Aussehen kleiner Körnchen, die sich vorzugsweise an der Stelle ansammeln, wo das meiste Cytoplasma angehäuft liegt. Auf der Fig. 7 sehen wir eine bereits ganz abgerundete Zelle mit ebenfalls rundem Kern, in dessen Innern eine reihenweise Anordnung der Chromatinkörnchen zu bemerken ist. Die Chondriosomen bewahren zum Teile noch die Gestalt von Körnchen, zum Teile erscheinen sie in Gestalt kleiner Ringe (Fig. 7). In der Fig. 8 ist das darauffolgende Stadium der Entwicklung der Spermatocyte abgebildet. Die Zelle hat beträchtlich an Größe zugenommen, anscheinend hauptsächlich auf Kosten des angeschwollenen Kernes. Sein Netzwerk hat sich vollends in einen dünnen, langen, kompakten Chromatinfaden verwandelt, welcher in verschiedenen Richtungen gekrümmt ist (leptotenes Stadium v. WINIWARTERS, 1900). Dieser Faden nimmt allmählich eine bestimmte Lage

ein und zerfällt in einzelne Teilstücke, welche mit ihren Enden nach einem der Pole des Kernes konvergieren, der wiederum eine ovale Gestalt angenommen hat (Stadium des dünnen Buketts, Fig. 9). Die Chromatinschleifen werden bedeutend dicker und weisen eine Längsspaltung auf, wobei sie noch einige Zeit hindurch ihre polare Orientierung beibehalten (Fig. 10, Stadium des dicken Buketts). Allmählich jedoch beginnen sie ihre regelmäßige Anordnung einzubüßen (Fig. 11, pachytenes Stadium v. Winiwarters). Hierauf treten an der Oberfläche der wie vorher eine Längsspaltung aufweisenden Chromatinelemente Dornen auf (Fig. 12). Ferner geht wiederum eine merkliche Verringerung der Zelldimensionen vor sich, und zwar hauptsächlich auf Kosten des Kernes, wie es scheint infolge Ausscheidung eines Teiles des Kernsaftes (Fig. 13). Die Chromatinelemente erhalten von neuem glatte Umrisse, nehmen stark an Dicke zu und werden kürzer. Die Längsspalte ist noch immer zu sehen (Fig. 13).

Auf diesem Stadium des Lebens der Zelle erfolgt das Verschwinden der Kernhülle.

Die Chromatinelemente, welche auf den Stadien der Fig. 11—13 eine periphere Lage eingenommen hatten, ziehen sich nunmehr nach der Zellmitte zusammen, wobei sie sich mehr oder weniger in einer Ebene anordnen (Fig. 14). Gleichzeitig nehmen sie noch mehr an Länge ab und an Dicke zu, so daß sie die Gestalt ovaler Körper aufweisen. Die Längsspalte hört auf sichtbar zu sein. Auf diese Weise entsteht die fertige Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung mit 14 Chromosomen, welche in günstigen Fällen gezählt werden können (Fig. 14). Die reduzierte Chromosomenzahl in den Geschlechtselementen von *Conus* ist demnach um die Hälfte geringer, als bei der Spermatogenese und Oogenese von *Paludina* (sieben nach Meves, 1902, und nach Popoff, 1907).

Die Spaltung der Chromosomen bei der ersten Reifeteilung erfolgt in ihrer Längsrichtung. Die Fig. 15 zeigt eine Äquatorialplatte mit doppelter Anzahl von Tochterchromosomen. Auf Fig. 16 und 17 sehen wir Äquatorialplatten zum Beginn der Anaphase im Profil, auf Fig. 18 die Bildung der Tochterplatten. Auffallend ist dabei ein Paar von Tochterchromosomen, welche immer noch mit ihren Enden miteinander verbunden sind.

Auf Fig. 19 ist das Stadium des bedeutendsten Auseinandertretens der Tochterplatten abgebildet. Auf der rechten Seite ist eine beginnende Einschnürung an dem Körper der Zelle zu bemerken. Diese Einschnürung wird auf dem Stadium der Fig. 20 ringförmig, wo die Elemente der Tochterplatten sich gleichzeitig zu einer kompakten Masse zusammendrängen, an

deren Oberfläche nur hier und da Konturen der Chromosomenenden hervortreten (obere Platte auf der linken Seite).

Bei *Conus* tritt zwischen der ersten und der zweiten Reifeteilung ein Ruhestadium ein. Die Fig. 21 zeigt ein Paar soeben zur Ausbildung gelangter Spermatocyten zweiter Ordnung. Ihre Kerne bilden gleichsam eine kompakte Chromatinmasse, welche eine große Anzahl von Vacuolen mit Kernsaft enthält. Zwischen denselben ist eine sogenannte Copula zu sehen, d. h. ein Überrest der achromatischen Spindel mit einem »Zwischenkörperchen« an der Grenze zwischen beiden Zellen.

Das Kernchromatin sammelt sich bald darauf wieder zu Chromosomen, welche sich zu der Äquatorialplatte der zweiten Reifeteilung anordnen (Fig. 22). Auf den Fig. 23 und 24, wo wir die achromatische Spindel von der Seite sehen, ist der Beginn der Chromosomenspaltung dargestellt. Die Fig. 25 bezieht sich auf das Stadium der kompakten Tochterplatten. Die Teilung des Zellkörpers nähert sich ihrem Ende.

Bisweilen gelingt es, in den Tochterzellen (Spermatiden) das Stadium des Aufquellens des Kernes abzupassen, wobei die einzelnen, durch Querbrücken miteinander verbundenen Chromosomen ganz deutlich hervortreten (Fig. 26). Bald darauf beginnt das Stadium der homogenen, von Vacuolen durchsetzten Chromatinmasse (Fig. 27, 29). Die erste Zeit hindurch sind die neu gebildeten Spermatiden durch den Überrest der Spindel miteinander verbunden (Fig. 27).

Ich muß nunmehr etwas zurückgreifen, um einige Worte über das Schicksal der Mitochondrien während der oben beschriebenen Verwandlungen zu sagen. Von dem Augenblicke an, wo sich die Spermatocyte zur ersten Reifungsteilung vorbereitet, bis zur Beendigung der zweiten Teilung, erscheinen die Mitochondrien in den meisten Fällen in Gestalt kleiner Ringe. In die Länge gestreckte Formen, wie sie nach Meves (1900) bei der Teilung der Spermatocyten erster und zweiter Ordnung von *Paludina* auftreten, waren bei *Conus* nicht zu beobachten. Ich habe keinerlei Hinweise auf ein Zerfallen der einzelnen ringförmigen Mitochondrienelemente in zwei Hälften bei der Teilung der Spermatocyten und auf eine Verteilung ihrer Hälften zwischen den Tochterzellen bemerken können. Auf Grund aller meiner Beobachtung muß ich annehmen, daß eine Verteilung der ganzen Ringe stattfindet (Fig. 8, 9, 11, 16, 19, 21, 23, 27).

Die Spermiogenese (Fig. 28—53).

Die junge Spermatide (Fig. 29) stellt eine kugelförmige Zelle dar mit ebensolchem Kern. Dieser letztere besteht, wie schon oben angegeben

wurde, aus einer homogenen, von Vacuolen durchsetzten Chromatinmasse. In dem Cytoplasma liegt eine geringe Anzahl mitochondrialer Ringe zerstreut. In einigen Fällen kann man sich davon überzeugen, daß ganz am Anfange der Entwicklung der Spermatide in deren Plasma ein Paar Centriolen enthalten ist, welche bisweilen durch eine Centrodesmose miteinander verbunden sind (Fig. 28).

Die weiteren Umwandlungen der Spermatide werden damit eingeleitet, daß die eine der Kernvacuolen bedeutend an Größe zunimmt, wobei sie die Chromatinmasse nach der Peripherie des Kernes verdrängt. Gleichzeitig tritt in dem Lumen dieser Vacuole ein kleines rundes Körperchen auf, das ich als Nucleolus bezeichnen will (Fig. 30). Im optischen Schnitte hat der Kern nunmehr das Aussehen eines Chromatinringes. Man kann zwei Pole an ihm unterscheiden. An dem einen derselben erreicht die Chromatinschicht des Kernes ihre größte Dicke und enthält die Überreste der Vacuolen. Nach dem gegenüberliegenden Pole zu nimmt diese Schicht bis zu völligem Verschwinden an Dicke ab (Fig. 30).

Was den Nucleolus betrifft, so legt derselbe auf diesem, wie auch auf den darauffolgenden Entwicklungsstadien den Färbemitteln gegenüber das nachstehende Verhalten an den Tag. Bei gelungener Färbung nach Benda zeigt er die gleiche Färbung bald wie das Chromatin, bald wie die Mitochondrien (d. h. er ist braun oder violett). Durch Boraxcarmin wird der Nucleolus ebenso gefärbt wie das Chromatin. Nach Biondi nimmt er eine rote Färbung an, das Chromatin dagegen eine grüne. Bei Anwendung der dreifachen Färbung nach Flemming wird er durch Gentiana gefärbt, das Chromatin hingegen durch Safranin.

Alle Überreste einer Vacuolisierung des Chromatins verschwinden und der Kern hat nunmehr das Aussehen eines hohlen Kügelchens mit kompakter Chromatinwandung, welche an dem einen Pol verdickt, an dem andern äußerst dünn ist. In einer Höhlung befindet sich das Kernkörperchen (Fig. 31).

Das Chromatin beginnt von demjenigen Pole des Kernes zurückzutreten, wo seine Dicke von allem Anfange an die geringste war. Es bildet sich ein Bezirk der Kernoberfläche, wo die Kernwandung nur aus der Kernmembran besteht. Die Chromatinmasse nimmt das Aussehen einer runden Schale an, deren Wandung überall die gleiche Dicke aufweisen kann. Der freie Rand dieser Schale ist durchaus scharf konturiert (Fig. 32 bis 38).

Inzwischen beginnt eine Reihe von Vorgängen, welche die Aufmerksamkeit des Beschauers auf sich lenken. Der Nucleolus legt sich der Kernhülle an dem Kernpole dicht an, welcher von Chromatin entblößt ist.

Der gleichen Stelle der Hülle, aber an deren äußeren Fläche, legt sich eine Gruppe von Chondriosomen dicht an, welche jetzt aus kleinen Kügelchen mit (nach BENDA) gefärbter Hülle und hellem Inhalt bestehen. Man erhält den Eindruck, als befänden sich der Nucleolus und die Chondriosomen in innigstem Zusammenhang untereinander (Fig. 32).

Bald darauf beginnt das Auseinandertreten des Nucleolus und der Chondriosomengruppe. Dabei streckt sich der Nucleolus etwas in die Länge und hinterläßt, indem er von der Peripherie des Kernes zurücktritt, eine Spur hinter sich, welche als deutlicher Faden zu sehen ist (Fig. 33, 34). In denjenigen Fällen, wo die Chondriosomen sich schon auf einer gewissen Entfernung von der Kernoberfläche befinden, kann man sich leicht davon überzeugen, daß dieser die Chondriosomengruppe mit dem Nucleolus verbindende Faden durch die Kernmembran hindurchzieht (Fig. 33).

Allmählich nimmt der Nucleolus eine mehr oder weniger runde Gestalt an. Die Mitochondrien beginnen sich nach dem gegenüberliegenden Kernpole hin zu verlagern und ihnen folgt bald auch der Nucleolus (Fig. 35, 36, 39; in letzterem Falle bewahrt der Nucleolus seinen fadenförmigen Fortsatz aus den früheren Stadien). Nachdem der Nucleolus den Boden unsrer Chromatinschale erreicht hat, legt er sich dicht an denselben an, indem er eine konische Gestalt annimmt (Fig. 40).

Alle diese Vorgänge gelangen bei der Fixierung und Färbung nach BENDA mit bemerkenswerter Deutlichkeit zur Beobachtung. In Anbetracht des in beträchtlichem Maße ausgesprochenen Synchronismus bei der Entwicklung der offenbar zu ein und derselben Spermatogemma gehörenden Spermatiden kann man die gleiche Erscheinung mit geringen Varianten gleichzeitig in Dutzenden nebeneinander liegender Elemente beobachten.

Es ist dies der sicherste Beweis dafür, daß wir es hier nicht mit zufälligen Bildern, sondern mit einer durchaus normalen und gesetzmäßigen Erscheinung zu tun haben.

Bei dem Fixieren nach HERMANN und dem Färben mit Eisenhämatoxylin macht sich eine weitere Einzelheit bemerkbar: es erweist sich nämlich, daß beide Centriolen, während der von uns betrachteten Periode in der Entwicklung der Spermatide, ebenfalls an dem des Chromatins entbehrenden Kernpole liegen. Das eine derselben (und zwar das proximale) besitzt schon die Gestalt eines Stäbchens (Fig. 37). Aus dem distalen Centriol wächst der Achsenfaden des zukünftigen Spermatozoons hervor: das proximale verbindet sich mit dem distalen, wobei ihre Gesamtheit den verdickten Basalteil des Achsenfadens bildet (Fig. 38: diese Basis

dringt nicht in das Innere des Kernes ein, wie man dies auf Grund der Figur hätte vermuten können, sondern stützt sich nur auf seine Hülle). Wie wir später sehen werden, verbleibt die Basis des Achsenfadens nicht an dem Orte, wo sie zur Bildung gelangte, sondern sie wird gleich den Mitochondrien und dem Kernkörperchen nach dem gegenüberliegenden Kernpole hin verlagert.

Bald nachdem der Nucleolus auf den Boden der Chromatinschale herabgesunken ist, kann man folgende Erscheinung beobachten. Die bis jetzt deutlich sichtbaren Ränder dieser Schale strecken sich in die Länge und schließen sich augenscheinlich an dem chromatinarmen Kernpole aneinander. Gleichzeitig erfolgt ein beträchtliches Dickerwerden der Chromatinschicht am gegenüberliegenden Pole. Der Nucleolus versinkt in die Masse des Chromatins, wobei er gleichzeitig aufquillt. Nunmehr wird nach Benda nur noch seine Hülle gefärbt, in deren Innern eine farblose, stark lichtbrechende Masse zu sehen ist (Fig. 41). Die exzentrisch gelegene Höhlung des Kernes ist im Vergleich zu den vorhergehenden Stadien merklich kleiner geworden.

Auf der Fig. 42 bemerken wir, daß der Nucleolus noch mehr aufgequollen ist, sich etwas in die Länge gestreckt hat und die Masse des Chromatins durchbohrt. An seinem äußeren Ende haben sich die Chondriosomen angesammelt, welche die Basis des Achsenfadens umgeben. Wir können nunmehr einen durch das Vorhandensein des Komplexes der angeführten Gebilde gekennzeichneten hinteren Pol der Spermatide und einen vorderen, dem ersteren gegenüberliegenden Pol unterscheiden.

Wir haben gesehen (Fig. 32 u. 33, 37 u. 38), daß die Chondriosomen, der Nucleolus und die Centriolen sich anfänglich an dem »vorderen« Pol der Spermatide befanden. Man wird daher annehmen müssen, daß eine Verlagerung dieses gesamten Komplexes um 180° in bezug auf den Kern stattgefunden hat. Es ist a priori sehr schwer zu entscheiden, ob in Wirklichkeit eine Verschiebung des Komplexes selbst stattgefunden hat, oder ob die Pole des Kernes ihren Platz getauscht haben. Für eine Entscheidung dieser Frage in ersterem Sinne spricht der Umstand, daß die beobachtete Verlagerung des Nucleolus und der Chondriosomen zu verschiedenen Zeiten vor sich gehen kann (Fig. 36, 40), und daß in denjenigen Fällen, wo das unfern von dem »hinteren« Pol liegende Kernkörperchen seinen fadenförmigen Fortsatz beibehalten hat, dieser letztere stets dem »vorderen« Pole zugewandt ist (Fig. 39).

Auf dem Stadium der Fig. 44 hat die Konzentration des Chromatins am hinteren Pol noch weitere Fortschritte gemacht und die Höhlung des Kernes ist noch kleiner geworden. Das Kernkörperchen hat sich zu

einem Säulchen gestreckt, dessen zugespitztes Ende etwas in die Höhlung des Kernes hineinragt.

Allmählich zieht sich das ganze Chromatin nach dem hinteren Teile des Kernes hin, während dessen vorderer Teil ausschließlich aus Kernsaft, sowie aus der diesen letzteren von dem Cytoplasma trennenden achromatischen Kernhülle besteht. Im optischen Längsschnitt hat der Kern auf diesem Stadium die Gestalt eines Hängeschlosses, wobei der chromatische Teil dessen Körper, der Schnitt durch die Hülle dagegen seinem Bogen entspricht (Fig. 45). Das stäbchenförmige Derivat des Nucleolus hat sich noch mehr in die Länge gestreckt und ragt noch immer mit seiner Spitze in die Höhlung des Kernes hinein. Ich werde dasselbe in Zukunft als den Achsenstab bezeichnen.

Auf diesem Stadium, wie auch auf dem unmittelbar vorangehenden (vgl. Fig. 42, 44, 45) zeigen die Chondriosomen bei der Betrachtung des Kernes von dessen hinterem Pol aus folgende Gestalt (Fig. 43): sie bilden eine meist aus sechs runden Körpern bestehende Rosette.

Die Höhlung des Kernes wird immer kleiner, so daß auch der chromatinfreie Teil der Kernhülle bedeutend an Umfang abnimmt (Fig. 46). Er beginnt die in den Rest der Höhlung hereinragende Spitze des Achsenstabes zu berühren. Die Chondriosomen drängen sich zu einem kleinen Häufchen an der Wurzel des Achsenfadens zusammen. Bis zu diesem Stadium einschließlich bewahrt die Spermatide eine im großen ganzen kugelförmige Gestalt bei.

Auf dem Stadium der Fig. 47 ist von der Höhlung des Kernes auch nicht mehr eine Spur zu sehen. Das Chromatin des Kernes ist zu einem homogenen, runden, schwach birnförmigen Körper vereinigt, dessen etwas zugespitzter Pol nach vorn gerichtet ist. Diese Chromatinmasse wird von dem hinteren nach dem vorderen Pole hin von dem Achsenstabe durchsetzt, welcher ein Derivat des Nucleolus darstellt. Sein vorderes Ende ragt in Gestalt einer Spitze vor, welche in das Plasma eingetaucht ist. Die Chondriosomen beginnen sich in der Richtung des Achsenfadens in die Länge zu strecken, dem sie die ganze Zeit über dicht anliegen (Fig. 47, 48).

Auf der Fig. 51 sehen wir, daß die gleichen Prozesse etwas weiter vorgeschritten sind. Der Kopf des zukünftigen Spermatozoons ist samt seinem Achsenstab etwas größer geworden; gewachsen sind auch die Chondriosomenstränge, welche den proximalen Bezirk des Achsenfadens, entsprechend dem zukünftigen Mittelstück des Spermatozoons, gleich einem Überzuge bedecken.

Von dem Augenblicke an, wo der kompakte Kern der Spermatide sich

in die Länge zu strecken beginnt, fängt das Protoplasma an, sich nach dessen vorderem Ende zusammenzuziehen (Fig. 47). Gleichzeitig beobachtet man in demselben folgende, durchaus gesetzmäßige Erscheinung. Schon auf viel früheren Stadien konnte man bemerken, daß ein Teil der Chondriosomen an deren allgemeiner Gruppierung keinen Anteil genommen hatte (vgl. Fig. 33). Auf den Stadien der Fig. 45 und 46 sehen wir außer den am hinteren Pole der Spermatide befindlichen Chondriosomenkomplexen noch einzelne Körperchen, welche sich weder durch ihre Gestalt, noch durch ihre Färbung von den Chondriosomen unterscheiden. Diese Körperchen liegen unweit des vorderen Poles der Zelle. Im Verlaufe der nächsten Entwicklungsstadien der Spermatide treten diese Körperchen zweifellos in eine innige Verbindung mit dem Vorderende des Achsenstabes (Fig. 47, 48). Daß es sich hier nicht um eine rein zufällige Lage der Mitochondrienkörperchen handelt, geht schon daraus hervor, daß die hier beschriebenen Bilder ungemein häufig beobachtet werden, besonders aber aus dem Umstande, daß bei dem darauffolgenden Wegrücken der Körperchen von der vorderen Spitze des Achsenstabes zwischen den beiden Bildungen noch lange Zeit hindurch ein dünner Faden zu bemerken ist (Fig. 50).

Wie dem nun auch sein mag, so liegen diese Körperchen doch früher oder später wiederum frei in dem Cytoplasma, welches nicht zur Verwendung gelangt ist (Fig. 49, 51). Dieses letztere trennt sich immer mehr und mehr von dem Körper des in der Entwicklung begriffenen Spermatozoons ab, wobei es sich allmählich in einen birnförmigen Anhang an dessen Vorderende verwandelt (Fig. 49, 50). Schließlich löst sich dieser Anhang ohne allen Zweifel gänzlich von dem Spermatozoon ab.

Auf der Fig. 50 ist ein Spermatozoon dargestellt, welches in seiner Entwicklung beträchtlich vorgeschritten ist. Sein Kopf, mit dem an seinem Vorderende vorgestreckten Achsenstab, fährt fort sich in die Länge zu strecken, wobei dieser Vorgang sich offenbar in der Richtung von vorn nach hinten ausbreitet. An dem hinteren (stumpfen) Ende des Kopfes kann man zwei längliche Körperchen von dunkler Farbe bemerken (Färbung nach Benda). Augenscheinlich haben wir es hier mit dem optischen Schnitt durch einen das Hinterende des Köpfchens umfassenden Ring zu tun. Es läßt sich schwer entscheiden, welchen Ursprunges derselbe ist (aus Chondriosomen oder aus einem Centriol?). Hinter dem Kopf befindet sich das nach Benda stark durch Kristallviolett gefärbte Mittelstück, auf welches der Schwanzabschnitt folgt. Ein Achsenfaden läßt sich in diesen beiden Abschnitten nicht mehr nachweisen.

In der Fig. 53 erblicken wir endlich ein bereits ganz ausgebildetes eupyrenes Spermatozoon (die Zeichnung ist auf Grund zweier Präparate angefertigt, von denen das eine nach Retzius, das andre nach Biondi bearbeitet worden war). Wir erkennen an demselben, von vorn nach hinten, nachstehende Teile: das Perforatorium, den Kopf mit dem Achsenstab in seiner Mitte, das Mittelstück und endlich den Schwanzabschnitt. Aus allem oben Dargelegten können wir darauf schließen, daß der Kopf aus dem Chromatin des Kernes der Spermatide hervorgegangen ist, sein Achsenstab aus deren Kernkörperchen, das Perforatorium aus dem Vorderende des Achsenstabes, vielleicht unter Mitwirkung der Mitochondriensubstanz, der Achsenfaden aus den Centriolen, der Belag des Zwischenstückes aus den Mitochondrien, derjenige des Schwanzabschnittes aus dem Cytoplasma.

II. Die atypische Reihe (Fig. 54—102).

In der atypischen Reihe kann nicht von Spermatocyten erster und zweiter Ordnung die Rede sein, weil zwischen der Bildung der Spermatocyte und der Entstehung der Spermatide nur eine einzige Teilung stattfindet.

In dem Leben der Spermatocyten kann man zwei Perioden unterscheiden: 1. von dem Stadium der jungen birnförmigen Spermatocyte bis zu der Bildung des kernlosen Elementes (Wachstumsperiode) und 2. die Teilung dieses letzteren in zwei Tochterelemente (Reifungsperiode). Die erste derselben ist durch eine beträchtliche Mannigfaltigkeit im Verlaufe der sie begleitenden Prozesse ausgezeichnet. In der Tat habe ich gefunden, daß der Übergang der Spermatocyte in den kernlosen Zustand auf dreierlei verschiedene Art und Weise vor sich gehen kann, welche wir einzeln besprechen wollen.

Die Wachstumsperiode (Fig. 54—86).

Entwicklungsweise a. Diese Entwicklungsweise ist die am meisten komplizierte. Als Ausgangspunkt dient in diesem, wie auch in den beiden andern Fällen, die junge Spermatocyte von birnförmiger Gestalt (Fig. 72, Färbung mit Eisenhämatoxylin). Dieselbe unterscheidet sich von dem entsprechenden Stadium der typischen Reihe (Fig. 5, Färbung nach Benda) nur durch etwas größere Dimensionen und durch ihren verhältnismäßigen Reichtum an Cytoplasma. Dieses Element rundet sich ab und sein Protoplasma nimmt an Quantität zu (Fig. 73). Das zuvor in Gestalt kleiner Körnchen über das Lininnetz des Kernes zerstreute Chromatin beginnt sich zu einer geringeren Anzahl größerer Elemente zu vereinigen. Die

Konzentration des Chromatins dauert an (Fig. 74). Allmählich erweisen sich im Kern große Chromatingebilde, welche meist die Gestalt dicker, kurzer Stäbchen haben, die bald einfach sind und an Chromosomen erinnern (Fig. 61), bald sich verästeln und miteinander anastomosieren (Fig. 75). Der Kernsaft beginnt sich ebenfalls zu färben. Gleich darauf beginnt eine starke Hyperchromasie des Kernes. Seine Chromatinelemente verschmelzen zu einem massiven Gitterwerk (Fig. 76), welches bald darauf gleichsam zusammenfällt (Fig. 77): der Kern nimmt dabei das Aussehen einer kompakten, von Vacuolen durchsetzten Chromatinmasse an.

Auf dem darauffolgenden Stadium tritt ein Zerfall des Kernes in zwei Hälften ein, nachdem sich zuvor eine ringförmige Einschnürung gebildet hatte (Fig. 78). Die Teilungsprodukte des Kernes zerfallen ihrerseits nacheinander in einzelne Elemente, welche den Charakter von Chromosomen aufweisen (Fig. 79). Diese letzteren vereinigen sich allmählich zu Gruppen, wobei ihre Zahl in den einzelnen Gruppen nicht beständig ist (meist 3—5; Fig. 80). Unsre Chromosomen behalten ihre Selbständigkeit indessen nicht lange bei, indem eine jede Anhäufung derselben sich bald in eine formlose, kompakte Masse Chromatins verwandelt (Fig. 81). Hierauf runden sich die auf diese Weise entstandenen Chromatinklumpen ab und werden stark vacuolisiert (Fig. 82). Allmählich beginnt dann ihre Auflösung (Fig. 84, 85). Gleichzeitig treten in dem Cytoplasma kleine Körnchen auf, welche von Eisenhämatoxylin verhältnismäßig schwach, von Boraxcarmin und Methylengrün gar nicht gefärbt werden und auf ungefärbten Präparaten eine bräunliche Farbe aufweisen. Ich halte diese Körnchen für Zerfallsprodukte des Chromatins. Sie sind im Cytoplasma noch einige Zeit nach dem definitiven Verschwinden des Kernes zu sehen (Fig. 85), welches am Ende unsrer ersten Periode in der Entwicklung des atypischen Samenkörpers eintritt.

Entwicklungsweise b. In diesem Falle verwandelt sich der Kern der abgerundeten herangewachsenen Spermatocyte plötzlich in ein gitterförmiges Gebilde (Fig. 57). Es entsteht der Eindruck, als würde das Lininnetz gröber und gleichmäßig von Chromatin durchsetzt. Die in Fig. 57 dargestellte Verschiedenheit in Struktur und Farbe ist eine ziemlich häufige Erscheinung.

Der gitterförmige Bau des Kernes wird hierauf gröber (Fig. 67) und dieser Vorgang dauert auch dann noch an, nachdem der Zerfall des Kernes begonnen hat. Bisweilen teilt dieser sich in zwei (Fig. 68), bisweilen aber in drei Teile (Fig. 69, 70), welche ihrerseits wieder einem weiteren Zerfalle unterliegen können.

Von diesem Augenblicke an verläuft die Entwicklung in der bereits von uns beschriebenen Weise, d. h. es erfolgt eine allmähliche Auflösung der einzelnen Chromatinanhäufungen (ohne Chromosomenbildung!), was schließlich zu der Bildung eines kernlosen Zellkörpers führt. Es muß bemerkt werden, daß in diesem Falle nicht selten eine Auflösung der Chromatinmassen innerhalb von Vacuolen beobachtet werden kann (Fig. 71).

Die Entwicklungsweise c ist die einfachste. Der Kern der Spermatocyte wird auf einmal deutlich hypochromatisch (Fig. 59). Sein kleines Kernkörperchen allein wird, wie zuvor, stark gefärbt.

Auf dem darauffolgenden Entwicklungsstadium werden die Umrisse des Kernes zum Teil undeutlich, zum Teil verschwinden sie gänzlich. Der Bau der Grundmasse des Kernes nähert sich immer mehr und mehr dem Bau des Protoplasmas. Das Kernkörperchen ist etwas aufgequollen und zeigt undeutliche Umrisse (Fig. 60).

Noch ein Schritt und wir erhalten einen völlig kernlosen, plasmatischen Körper, wie dies auch bei den schon früher besprochenen Entwicklungsweisen der Fall war.

Als eine Entwicklungsweise, welche eine intermediäre Lage zwischen den oben beschriebenen Rubriken b und c einnimmt, kann man nachstehenden Fall ansehen. In dem Kern der Spermatocyte verschwinden die Chromatinkörner, wobei ein grobmaschiger Bau des Kernes zutage tritt (Fig. 54). Allmählich beginnt seine gesamte Masse sich intensiver zu färben, indem gleichzeitig eine Fragmentation des Kernes stattfindet. Zuerst nimmt der Kern eine ringförmige Gestalt an (Fig. 55), worauf er in Stücke zerfällt (Fig. 56), welche schließlich gänzlich aufgelöst werden.

Einmal beobachtete ich eine Spermatocyte, deren Kern einen unregelmäßig gestalteten Chromatinkörper darstellte, welcher augenscheinlich aus einem oder einer ganzen Anzahl zu einem engen Knäuel verwickelter Fäden bestand, aus dem einzelne freie Schlingen in das Cytoplasma hervortraten (Fig. 58).

Einige Male wurde meine Aufmerksamkeit durch ganze Gruppen atypischer Spermatocyten in Anspruch genommen, bei denen sich auf der Peripherie ihres Körpers ein oder mehrere kleine Bläschen mit hellem, strukturlosem Inhalte befanden (Fig. 66). Bei näherer Untersuchung erwies es sich, daß hier vom Kern abgelöste Fragmente vorlagen, welche sodann aus der Zelle ausgestoßen wurden. So sehen wir auf Fig. 63 eine Ausstülpung der Kernhülle neben einem bereits von dem Kern losgelösten Bläschen. Auf der Fig. 64 liegen dicht am Kern zwei solcher Bläschen. Auf der Fig. 65 treffen wir ein vom Kern losgelöstes Bläschen auf dem

Weg nach der Peripherie der Zelle an, auf Fig. 66 ein solches bereits außerhalb der Zelle.

Ich werde mich hier nicht bemühen, eine Erklärung für diese merkwürdige Erscheinung zu geben. Von Interesse ist indessen der Umstand, daß Perroncito (1910) etwas völlig Übereinstimmendes in den atypischen Spermatocyten erster Ordnung bei *Paludina* beobachtet hat. Ich möchte hier daran erinnern, daß eine übereinstimmende Erscheinung auch von mir (1907, vgl. Fig. 39, 47, 51) bei den Gregarinen aus dem Darm von *Tenebrio molitor* beschrieben worden ist, bei denen in gewissen Fällen mehr oder weniger beträchtliche Teilchen des Kernes abgespaltet werden.

Um mit der ersten Entwicklungsperiode der atypischen Samenkörper bei *Conus* abzuschließen, habe ich nur noch einige Worte über die Chondriosomen zu sagen. Dieselben sind ausnahmslos auf allen Stadien vorhanden, wovon man sich durch Anwendung der Fixierungs- und Färbemethode nach Benda leicht überzeugen kann. Sie treten bald in Gestalt kleiner Körnchen (Fig. 59), bald in Gestalt gerader oder gekrümmter Stäbchen auf (Fig. 61); sie können auch an dem Aufbau größerer Körper Anteil nehmen (Fig. 62). Sehr häufig haben die Chondriosomen das Aussehen kleiner Ringe (Fig. 82), wobei es in Anbetracht der äußerst geringen Dimensionen der uns beschäftigenden Gebilde oft recht schwierig ist zu entscheiden, ob wir es in der Tat mit linearen Figuren, oder aber mit optischen Schnitten durch hohle Kügelchen zu tun haben.

Die Reifungsperiode (Fig. 87—88).

Die kernlosen Spermatocyten erleiden eine Teilung, bevor sie sich in Spermatiden verwandeln. Das Vorhandensein dieser Teilung läßt sich dank ihrer nachstehenden Eigentümlichkeiten nur schwer nachweisen. Während derselben kann man weder Centriole, noch eine archoplasmatische Strahlung, noch eine achromatische Spindel entdecken. Auch Chromatinelemente sind natürlich nicht vorhanden. Zieht man in Betracht, daß die atypischen Spermatocyten bei *Conus* gewöhnlich dicht zusammengedrängt erscheinen, so wird es begreiflich, daß Bilder, wie das auf Fig. 87 dargestellte, leicht für das Ergebnis einer rein äußerlichen Verbindung zweier Spermatocyten angesehen werden können, wobei ein Teil der Oberfläche beider Spermatocyten sich abgeflacht hat. Paare von kernlosen Zellen, wie sie auf der Fig. 88 dargestellt sind, wird der Beschauer leicht für einander zufällig berührende Spermatocyten ansehen können. Dieser Ansicht war auch ich, als ich meine vorläufige Mitteilung (1911) veröffentlichte. Seit dieser Zeit ist es mir geglückt, in zwei Fällen

Gruppen von Spermatocyten anzutreffen, welche ganz frei lagen und ohne allen Zweifel in der Teilung begriffen waren. Dieser Vorgang erfolgt auf ganz einfache Weise. Die Zelle streckt sich in die Länge und an ihrem Äquator tritt eine ringförmige Furche auf, durch welche die Teilungsebene bestimmt wird. Diese letztere ist sehr bald als hellerer Streifen zu erkennen (im optischen Schnitt, Fig. 87). Nach der Zerspaltung des protoplasmatischen Körpers runden sich die Tochterelemente ab und bleiben eine Zeitlang in Berührung miteinander (Fig. 88). Nicht selten hebt sich während der Teilung die Oberflächenschicht des Plasmas der Mutterzelle bei der Bildung der ringförmigen Äquatorialfurche etwas ab. In diesem Falle sind die Tochterzellen gleichsam von einem gemeinsamen Futteral umgeben, wodurch ihre Abstammung von einer einzigen Mutterzelle auf das deutlichste erwiesen wird (Fig. 88).

Die Spermiogenese (Fig. 89—102).

Bei der Beschreibung der Spermiogenese der atypischen Samenkörper von *Conus* werden wir hauptsächlich das Schicksal von Gebilden zweierlei Art verfolgen müssen, die in der kernlosen Spermatide enthalten sind, und zwar der Chondriosomen und der Centralkörperchen. In Anbetracht des Umstandes, daß wir bei dem Studium beider eine verschiedene Technik anwenden, oder bei gleicher Technik verschiedene Präparate verwenden müssen, dürfte es sich empfehlen, ihre Verwandlung getrennt zu besprechen.

Die Chondriosomen in der kernlosen Spermatide haben das Aussehen kleiner Ringelchen oder Körnchen (Fig. 88, 89). Nicht selten legen sie das Bestreben an den Tag, sich an einem der Zellpole anzusammeln (Fig. 89, 92). Ich habe Fälle beobachten können, wo der betreffende Pol sich zu einem langen, von Mitochondrialmasse erfüllten Fortsatz auszog, wobei in letzterer eine Reihe von Vacuolen enthalten war (Fig. 89). Nach und nach beginnen die Chondriosomen sich in Reihen anzuordnen, wobei sie zuerst körnige Fäden bilden (Chondriomiten, Fig. 92, 93), welche allmählich ein glattes Aussehen annehmen (Chondriokonten, Fig. 94). Gleich darauf lassen sie sich nicht mehr mit Kristallviolett nach Benda färben, so daß man ihr ferneres Schicksal auf mit Eisenhämatoxylin (nach Fixierung nach Flemming oder Hermann) gefärbten Präparaten verfolgen muß.

Um diese Zeit beginnt die Zelle, eine langgestreckte, unregelmäßig spindelförmige Gestalt anzunehmen, wobei sie beträchtlich an Größe zunimmt. Unsre Chondriokonten lagern sich an ihrer Oberfläche, wobei sie ein System von Fäserchen bilden, welche nach den Polen der Spindel

zusammenlaufen (Fig. 95). Sehr häufig gelingt es nicht, den Verlauf der oberflächlichen Fäserchen von einem Ende der Zelle nach dem andern zu verfolgen. In solchen Fällen sind offenbar zwei selbständige Systeme von Fäserchen vorhanden (Fig. 102). Als seltene Ausnahme habe ich eine Anordnung der Fäserchen angetroffen, wie sie in der Fig. 96 abgebildet ist. Von dem einen (auf der Fig. dem unteren) Ende der Zelle geht ein System von oberflächlich angeordneten Fäserchen aus. An dem andern Ende findet sich nur ein einziges, verhältnismäßig sehr massives Fäserchen, welches tief im Innern des Protoplasmas mit einer Anschwellung endet, von der ein radiäres System feinster Fäserchen ausläuft.

Die Fig. 97 zeigt einen Querschnitt durch die Spermatide nach der Bildung der Längsfäserchen. Wir erkennen hier deutlich die Anordnung dieser letzteren (welche auf dem Querschnitt als dunkle Pünktchen auftreten). Ihre Hauptmasse liegt dicht an der Peripherie, zwei sind an der Grenze der großen Vacuole zu sehen, von der später die Rede sein wird.

Die Centriolen lassen sich nur sehr selten in den Spermatocyten unterscheiden. Sie haben gewöhnlich das Aussehen zweier in einer kleinen Anhäufung hellen Plasmas liegenden Pünktchen (Fig. 74). In den Spermatiden haben sie anfangs die Gestalt stäbchenförmiger Elemente und treten meist in der Zweizahl (Fig. 90), bisweilen auch in der Vierzahl auf (Fig. 91). Ihre Gliederung wird darauf eine Zeitlang undeutlich und ihre Substanz sammelt sich zu einem unregelmäßig gestalteten Klümpchen an, aus dem zwei Fäden hervorzuwachsen beginnen (Fig. 98). Nachdem diese Fäden die Peripherie der Zelle erreicht haben, fahren sie fort in Gestalt zweier freier Geißeln weiterzuwachsen (Fig. 99, 100). Gleichzeitig wird die Gliederung des Centralkörperchens von neuem sichtbar. Gewöhnlich sieht man zwei Centriolen, welche an den inneren Enden der Geißeln sitzen (Fig. 100, 101). Nicht selten kann man indessen ein oder zwei Ergänzungspaare von Centriolen bemerken, welche den Geißeln an andern Punkten ihrer intraplasmatischen Abschnitte ansitzen (Fig. 99).

Bevor wir mit der Entwicklungsgeschichte der atypischen Spermatozoen von *Conus* abschließen, haben wir noch einige Worte über die Bildung der für die fertigen Elemente charakteristischen Vacuolen zu sagen. Sehr häufig kann man schon in dem Plasma junger Spermatiden bald eine beträchtliche Anzahl verhältnismäßig kleiner Vacuolen (Fig. 88, 89, 91), bald eine oder zwei Vacuolen von viel größeren Dimensionen antreffen (Fig. 90). Bei dem ausgebildeten Samenkörper nimmt gewöhnlich eine

große Vacuole (öfters auch deren zwei) eine mehr oder weniger centrale Lage ein (Fig. 95, 96, 97), wobei nicht selten neben derselben auch noch eine ganze Reihe kleiner Vacuolen auftritt (Fig. 102).

Die Fig. 102 stellt einen fertigen atypischen Samenkörper dar, bei welchem sowohl das periphere System meridionaler Fäserchen, als auch das Geißelpaar mit Centriolen an der Basis mit Hämatoxylin gefärbt sind. Wir erkennen hier, daß die Austrittsstelle der Geißeln nach außen dem einen Ende des spindelförmigen Körpers entspricht.

Um das Bild des reifen Samenkörpers zu vervollständigen, ist noch zu erwähnen, daß ein kleiner Plasmabezirk besonders differenziert erscheint. Auf Strichpräparaten, die mit Boraxcarmin gefärbt sind, ist er viel heller und bricht das Licht stärker, als das übrige Plasma. Auf manchen Schnittpräparaten, die nach M. Heidenhain bearbeitet waren, läßt sich das betreffende Gebilde als ein dunklerer Fleck erkennen (Textfig. 1). Nach der Analogie mit den später zu erörternden Verhältnissen bei *Vermetus* ist anzunehmen, daß es sich um einen Teil des Centralapparates (das Idiozom) handelt.

Textfig. 1.



Wenn ich auch zu der Überzeugung gelangt bin, daß bei der Entwicklungsgeschichte der atypischen Spermatozoen bei *Conus* ohne allen Zweifel normalerweise eine Teilung des Zellkörpers beobachtet wird, so sprechen doch einige Angaben dafür, daß in gewissen Fällen die Spermiogenese auch ohne eine solche Teilung eingeleitet werden kann. In der Tat erblicken wir auf den Fig. 54 und 58 noch mit einem Kern versehene Spermatocyten, welche schon die für das fertige Spermatozoon charakteristische Gestalt anzunehmen beginnen. Auch die Bildung der Vacuolen geht vor sich. Ich halte es für durchaus möglich, daß diese Spermatocyten sich unmittelbar in Samenkörper verwandelt haben würden.

Ich habe bisher noch nicht von dem Baue des Plasmas der Spermatocyten und Spermatiden der atypischen Reihe gesprochen. Auf allen Stadien ist derselbe wabig auf fixierten Präparaten. Das Plasma kann dabei in der ganzen Zelle mehr oder weniger gleich sein, oder aber in verschiedenen Bezirken einen verschiedenen Grad von Dichtigkeit aufweisen (vgl. z. B. Fig. 101). Bei der Spermatide und dem fertigen Samenkörper ist die oberflächliche Schicht des Protoplasmas zu einer ziemlich festen Hülle differenziert, deren Anwesenheit namentlich in denjenigen Fällen deutlich zutage tritt, wo der Zellinhalt infolge der Einwirkung

der Reagentien etwas geschrumpft ist, so daß sich zwischen dem unveränderten Plasma und der Hülle stellenweise Hohlräume bilden, wie dies z. B. am unteren und oberen Rande der Fig. 97 zu bemerken ist. Ebendaselbst kann man sich auch davon überzeugen, daß die oberflächlichen Fäserchen nicht in der Hülle selbst gelegen sind, sondern in der äußeren Schicht des unveränderten Protoplasmas, mit der zusammen sie denn auch von der Hülle abstehen (unterer Rand der Fig. 97).

Das Studium atypischer Samenkörper im lebenden Zustande hat ergeben, daß dieselben unbewegliche Elemente darstellen. Unbeweglich sind auch die an einer der Extremitäten der Körperchen hervorstarrenden Geißeln.

In der mit Hilfe des Zeichenapparates angefertigten Fig. 1 sind in etwas schematischer Gestalt Teile eines Querschnittes durch den Hodenschlauch von *Conus* dargestellt. Die Aufgabe dieser Figur ist es, die gegenseitige Gruppierung der Elemente der typischen (I) und der atypischen (II) Reihe zu demonstrieren. Es muß hier hervorgehoben werden, daß die Vertreter der einzelnen Stadien beider Reihen sich zu kompakten, ziemlich beträchtlichen Gruppen vereinigen, welche ohne sichtbare Aufeinanderfolge angeordnet sind. Die Bedeutung der Bezeichnungen ist aus der Erklärung der Tafeln zu ersehen.

Gegen 25% aller von mir untersuchten männlichen Exemplare von *Conus* enthielten in ihren Hoden eine geringe Anzahl von Oocyten, welche von Follikelzellen umgeben waren und sich in keiner Weise von den basalen Elementen des Keimepithels unterschieden (Fig. 4). Diese Oocyten liegen einzeln in der Drüse zerstreut. Während der obenerwähnten Jahreszeit wurden nur Oocyten erster Ordnung angetroffen, welche sich auf dem Stadium des in dem Kern zerstäubten Chromatins befanden. Auf der Fig. 4 kann man auch eines jener zusammengesetzten Kernkörperchen erblicken, wie sie in der Oogenese der Mollusken so oft angetroffen werden. Soweit ich mich hiervon überzeugen konnte, handelt es sich hier um einen accidentellen Hermaphroditismus.

Die Entwicklung der Samenkörper bei Vermetus gigas.

Das Keimepithel.

Das Keimepithel der Samenschläuche, welches von außen durch eine ziemlich beträchtliche bindegewebige faserige Hülle mit zerstreut darin liegenden längsgestreckten Kernen ausgekleidet wird, stellt eine Protoplasmaschicht von sehr veränderlicher Dicke dar. Die lokalen

Verdickungen entsprechen den Anhäufungen von Kernen (Fig. 103). Die einen Kerne, von verhältnismäßig geringer Größe, liegen anscheinend frei im Protoplasma; wenigstens habe ich keine Grenzen zwischen den entsprechenden Plasmabezirken entdecken können. Ihr Chromatin ist in Gestalt grober Klümpchen längs dem Lininnetz verteilt. Andere Kerne, von bedeutenderer Größe, bilden den Teil von Zellen, welche von dem übrigen Protoplasma des Keimepithels scharf abgegrenzt sind (Fig. 104, Fig. 103 rechts).

So weit ich mich davon überzeugen konnte, entstehen diese Elemente auf die Weise, daß der an die oben beschriebenen freiliegenden Kerne unmittelbar angrenzende Teil des Plasmas durch die begrenzende Oberfläche von dem übrigen Protoplasma abgeteilt wird und die neu entstandenen Elemente rasch zu wachsen beginnen. In dem Kern treten ein, zwei oder mehr Nucleolen auf und die Chromatinkörnchen werden kleiner. Der Kern hat anfangs eine unregelmäßige, häufig längsgestreckte Gestalt (Fig. 104), wird aber nach und nach sphärisch (Fig. 103 rechts). Es unterliegt keinem Zweifel, daß die auf diese Weise gebildeten Elemente des Keimepithels den basalen oder Nährzellen der übrigen Mollusken entsprechen.

Die Fig. 105 zeigt eine Basalzelle, welche ihre volle Entwicklung erreicht hat (Färbung mit Eisenhämatoxylin und Lichtgrün). Ihr sphärischer Kern enthält drei Kernkörperchen. Das im Centrum des Kernes sehr lockere und an seiner Peripherie dichtere Lininnetz ist mit kleinen Chromatinkörnchen besät. Der Zellkörper ist von unregelmäßig elliptischer Gestalt. In dem Protoplasma sind folgende Einschlüsse zu unterscheiden. An dem linken Rande der Zeichnung sieht man eine Anhäufung von Körnchen, welche durch Hämatoxylin dunkelgrau gefärbt wurden. Es sind dies augenscheinlich Chondriosomen. Ferner erkennt man am linken und rechten Rande des Kernes je einen dunklen Fleck von unregelmäßiger Gestalt, welcher grünlich gefärbt wurde. Der linke Fleck enthält mehrere dunkle Pünktchen, von denen einige paarweise angeordnet liegen. Möglicherweise haben wir hier ein Idiozom mit Centriolen vor uns.

Die Fig. 169 und 170 stellen zwei benachbarte Schnitte durch eine andre Basalzelle dar. Auf dem Schnitte Fig. 170 erblicken wir einen mit dem auf Fig. 105 dargestellten ganz übereinstimmenden Kern, doch sind die Kernkörperchen hier von bedeutend größeren Dimensionen. Was dagegen den Schnitt Fig. 169 anbetrifft, so fällt uns hier folgende interessante Eigentümlichkeit sofort in die Augen. In dem Protoplasma geht von einem bestimmten Punkt ein System gerader Strahlen aus,

deren Gesamtheit einen stumpfen Kegel bildet, wovon man sich überzeugen kann, indem man den Schnitt bei Drehen der Mikrometerschraube untersucht. Diese Strahlen sind mit Mikrosomen besät. In dem peripheren Teil des Plasmas, welcher seinen wabigen Bau beibehalten hat, befindet sich eine Reihe großer sphärischer Einschlüsse von bräunlicher Farbe. Die Basalzellen sind zweifelsohne dazu befähigt, sich mitotisch zu teilen. In der Fig. 109 ist eine in der Teilung begriffene Basalzelle aus dem Keimepithel auf dem Stadium der Äquatorialplatte abgebildet, in der Fig. 110 ein Paar Tochterzellen mit noch erhaltenen Tochterplatten, welche durch einen Überrest der achromatischen Spindel miteinander verbunden sind. Es muß indessen bemerkt werden, daß man ein so vorgerücktes Stadium des mitotischen Prozesses nur an verhältnismäßig kleinen Basalzellen beobachten kann. Ich bin zu der Überzeugung gelangt, daß die mitotische Teilung nur bei jungen basalen Elementen bis zu ihrem Ende verläuft.

Damit soll indessen nicht gesagt sein, daß die Kerne alter, bis zu ihrer maximalen Größe herangewachsener Basalzellen, immer ausschließlich im Ruhezustande angetroffen werden. So sehen wir, daß das Chromatin des Kernes der sehr großen, auf Fig. 106 abgebildeten Basalzelle zu einem langen, doppelten, gewundenen Strang vereinigt ist (der Schnitt hat nur einen Teil desselben getroffen). Es ist noch das Vorhandensein eines sphärischen Einschlusses von bräunlicher Farbe in dem Plasma hervorzuheben.

Auf der Fig. 107 treffen wir in dem Kerne eine ganze Reihe der Länge nach gespaltener Elemente an, welche bald längsgestreckt, bald bogenförmig gekrümmt sind. Die Fig. 108 bietet in der Hinsicht ein besonderes Interesse, daß beide Hälften der meisten Chromatinelemente des Kernes etwas auseinander gerückt sind, wodurch ein Bild erzielt wird, wie es in der Spermatogenese und Oogenese der verschiedensten Tiere so häufig angetroffen wird (diplotenes Stadium von v. Winiwarter). In dem Plasma unsrer Zelle ist das Idiozom mit einem Paar Centriolen deutlich zu sehen.

Spätere Stadien der Mitose habe ich in großen Basalzellen bei *Vermetus* nicht angetroffen.

Zum Beschlusse der Besprechung des Keimepithels habe ich noch zu erwähnen, daß in dem die freien Kerne umgebenden Plasma zweierlei Arten von Einschlüssen sehr verbreitet sind. Die einen derselben sind verhältnismäßig klein und werden durch Osmiummischungen schwarz gefärbt; sie stellen offenbar Tröpfchen einer fettähnlichen Substanz dar. Die andern sind viel größer, von ovaler Gestalt und bewahren bei allen

Fixierungsweisen ihre bräunliche Färbung. Es handelt sich aller Wahrscheinlichkeit nach in beiden Fällen um Ablagerungen von Reservenährstoffen (Fig. 103).

Die Vermehrung der Spermatogonien (Fig. 111—120).

Die Spermatogonien von *Vermetus* liegen zu der Jahreszeit, wo ich mein Material konservierte, in den peripheren Teilen des Lumens der Samenschläuche. Es ist mir nicht möglich gewesen, ihre genetischen Beziehungen zu dem Keimepithel mit völliger Gewißheit festzustellen. Soweit ich dies beurteilen konnte, werden sie, wie bei den andern Mollusken, aus den »indifferenten« Elementen dieses letzteren gebildet.

Eine Spermatogonie stellt in der Ruhe (Fig. 111) eine kleine runde Zelle dar, deren Hauptmasse der Kern ausmacht. Das Chromatin desselben liegt längs dem Lininnetz in Gestalt von verschieden großen Klümpchen zerstreut. Das Protoplasma ist in geringer Menge an einem der Zellpole angehäuft. Bei gelungener Färbung nach Heidenhain kann man in demselben mitunter einen dunkleren Bezirk unterscheiden, in welchem man bisweilen hellere runde Stellen durchschimmern sieht.

Textfig. 2 u. 3.



Auf einigen Präparaten, die aus einem Material hergestellt waren, welches in der Hermannschen Flüssigkeit sehr lange verblieben war, und wo infolgedessen das Kernchromatin sich nach M. Heidenhain nur sehr schwach färben ließ, konnte ich manchmal an der Stelle des obigen dunkleren Plasmabezirkes folgende Strukturen wahrnehmen. Entweder lag da ein rundlicher dunkler Körper mit einem Centralkörperchen im Innern und mit einer Anzahl von kurzen, schwarz gefärbten Stäbchen an der Peripherie (Textfig. 2), oder es war nur ein größeres Häufchen von solchen Stäbchen zu sehen (Textfig. 3). Höchst wahrscheinlich handelt es sich hier um ein Homologon des Nebenkernes der Pulmonaten.

Die mitotischen Teilungen der Spermatogonien weisen nichts Besonderes auf. Auf das Stadium des Fadens (Fig. 112) folgt das Stadium der über den ganzen Kern zerstreuten längsgespaltenen bogenförmigen Chromatinelemente (Fig. 113). Die Hülle des Kernes verschwindet und die massiver gewordenen Chromatinelemente sammeln sich zu einer Äquatorialplatte an (Fig. 114). Auf der Fig. 115 ist die Äquatorialplatte im Profil dargestellt. Die Fig. 116 zeigt das Auseinandertreten der

Tochterchromosomen, die Fig. 117 das Stadium der Tochterplatten. Wir sehen hier eine Reihe ringförmiger Chondriosomen, welche an der Äquatorialebene der Zelle um die Centralspindel herum angeordnet sind. Die Fig. 118 und 119 verbildlichen die Teilung des Zellkörpers. In der unteren Zelle der Fig. 119 sieht man die beginnende Rekonstruktion eines der Tochterkerne. Auf der Fig. 120 hat dieser Vorgang sein Ende erreicht.

Es war mir möglich, zwei verschiedene Kategorien von Spermatogonien festzustellen, deren Vertreter man in dem einen Falle für die Vorfahren der typischen, in dem andern Falle als diejenigen der atypischen Spermatozoen hätte ansehen können. Erst nach der letzten Vermehrungsteilung lassen sich bei den Vertretern der typischen und der atypischen Reihe deutliche morphologische Unterschiede erkennen.

I. Die typische Reihe (Fig. 121—155).

Die Wachstums- und Reifungsperiode (Fig. 121—143).

Die ersten Veränderungen, welche in den anfangs vollständig mit den Spermatogonien (Fig. 111) übereinstimmenden jungen Spermatocyten erster Ordnung auftreten, bestehen in einer merklichen Vergrößerung der Dimensionen der Zelle und namentlich ihres Kernes, in der Zerstäubung des Chromatins in diesem letzteren, sowie in seiner völlig gleichmäßigen Verteilung über das Lininnetz, dessen Fäden durch das Chromatin ganz verdeckt werden (Fig. 121). Nach und nach wird das Chromatinnetz durch einen in allen Richtungen gekrümmten ununterbrochenen Chromatinfaden ersetzt (leptotenes Stadium, Fig. 122). Sodann zerfällt dieser Faden in einzelne Stücke, deren Enden nach einem der Pole des Kernes zusammenlaufen (Stadium des dünnen Buketts, Fig. 123). Bisweilen gelingt es, in dem Plasma, nahe von dem betreffenden Pole, ein Paar Centriole zu entdecken. Als für dieses Stadium bei *Vermetus* charakteristisch kann noch hervorgehoben werden, daß von allem Anfange der polaren Anordnung der Chromatinschleifen, wenn in denselben nicht einmal eine Andeutung einer Längsspaltung zu bemerken ist, ihr mittlerer Teil beträchtlich dicker erscheint als ihre freien Enden (Fig. 123).

Auf dem Stadium des dicken Buketts (Fig. 124) erscheinen die einzelnen schleifenförmigen Chromatinelemente etwas kürzer und dicker und zeigen eine deutlich sichtbare Längsspalte. Ihre Orientierung ist nicht mehr so regelmäßig, wie dies auf dem vorhergehenden Stadium der Fall war. Diese Elemente fahren fort an Dicke zuzunehmen (Fig. 125), wobei an ihrer Oberfläche kleine farblose Fortsätze (Linin?) zu bemerken sind. Die Chromatinelemente werden sodann noch massiver und die

Fortsätze des vorhergehenden Stadiums nehmen das Aussehen von Dornen an. Die Längsspalte hört auf sichtbar zu sein (Fig. 126).

Hierauf folgt ein Stadium der doppelten, glatten Chromatinfiguren. Am häufigsten trifft man zwei dicke, kurze Stäbchen an, welche eine U-, V-, X- oder Y-förmige Figur bilden. Seltener tritt ein Komplex zweier parallel gerichteter, verhältnismäßig langer Stränge auf, welche sich auf der einen Seite mit ihren Enden berühren, oder zwei kugelförmige Körperchen, welche hantelförmig durch eine Querbrücke mit einander verbunden sind (siehe am linken Rande der Fig. 127).

Das eben beschriebene Stadium geht unmittelbar in das Stadium der Äquatorialplatte über (Fig. 128). Die Chromosomen stellen kurze und dicke stäbchenförmige Gebilde dar. Bisweilen haben sie die auf Fig. 129 abgebildete Gestalt, wobei ihre Doppelnatur zutage tritt. Die Zahl der Chromosomen in der Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung beträgt 14, d. h. ebensoviel wie bei *Conus*.

Die Spaltung der Chromosomen bei der Teilung erfolgt in der Längsrichtung, wie dies aus der Fig. 130 hervorgeht, welche eine Äquatorialplatte en face unmittelbar nach einer solchen Spaltung darstellt. Im Profil ist die Äquatorialplatte in der Fig. 131 dargestellt.

Das Auseinandertreten der Tochterchromosomen kann man auf der Fig. 132 erkennen, die Tochterplatten auf der Fig. 133, den Beginn der Kernrekonstruktion nach der Teilung des Körpers der Mutterzelle auf der Fig. 134.

Ebenso, wie dies auch bei *Conus* der Fall war, ist zwischen der ersten und zweiten Reifeteilung ein Stadium des ruhenden Kernes eingeschaltet. Auch in diesem Falle erweist sich das Chromatin als zu einer homogenen, von einer beträchtlichen Anzahl von Vacuolen durchsetzten Masse vereinigt (Fig. 135).

Indem das Chromatin sich zu der nächsten Teilung vorbereitet, zerfällt es von neuem in Chromosomen (Fig. 136), welche sich nach dem Verschwinden der Kernhülle zu einer Äquatorialplatte anordnen (Fig. 137 en face gesehen; Fig. 138 im Profil gesehen). Die Fig. 139 und 140 zeigen zwei aufeinanderfolgende Stadien der Tochterplatten.

Gleich nach der Teilung des Zellkörpers haben die Kerne der Tochterzellen das Aussehen kompakter Chromatinmassen, in denen keine einzelnen Chromosomen unterschieden werden können. Die Tochterzellen selbst gleichen zwei mit ihrer kleineren Fläche aneinander gelegten abgestumpften Kegeln (Fig. 141). Später runden sie sich indessen ab und treten auseinander, wobei sie aber immer noch vermittels des Überrestes der Centralspindel miteinander in Verbindung bleiben. In ihren rekonstruierten

Kernen bemerkt man von neuem Chromatinelemente (Fig. 142). Noch ein Schritt weiter, und der Kern der Spermatide nimmt das uns bereits bekannte Aussehen einer ununterbrochenen und anscheinend homogenen Chromatinmasse mit großen Vacuolen in ihrem Innern an (Fig. 143).

Um mit der Spermatogenese in der typischen Reihe abzuschließen, müssen noch kurz die Chondriosomen erwähnt werden. Auf den Stadien des Buketts haben sie das Aussehen kleiner Ringelchen, welche vielleicht den optischen Schnitt von bläschenförmigen Gebilden darstellen (Fig. 123, 124). Auf den darauffolgenden Stadien, bis zu der zweiten Reifungsteilung, haben die Chondriosomen eine noch ausgesprochenere ringförmige Gestalt (Fig. 125, 126, 131, 135, 138, 140). In der jungen Spermatide stellen sie eine Gruppe kleiner Bläschen dar (Fig. 143).

Es ist noch zu erwähnen, daß die Spermatocyten erster Ordnung bei *Vermetus*, wie dies auch bei *Conus* der Fall ist, ihre maximale Größe in derjenigen Periode ihrer Entwicklung erreichen, welche von dem Momente der Beendigung des Bukettstadiums bis zu der Bildung der Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung andauert.

Die Spermiogenese (Fig. 143—155).

Die junge Spermatide stellt eine abgerundete Zelle mit sphärischem Kern dar, welcher aus einer homogenen vacuolisierten Chromatinmasse besteht. An einem der Zellpole bemerken wir im Plasma eine Anhäufung runder Chondriosomen, etwa 8—10 an der Zahl (Fig. 143).

Nach und nach beginnt das Chromatin sich an der Oberfläche des Kernes anzusammeln, mit Ausnahme eines kleinen Bezirkes derselben an einem der Pole. Gleichzeitig geht eine partielle Verschmelzung der Chondriosomen miteinander vor sich, was das Auftreten von vier verhältnismäßig großen kugelförmigen Körperchen zur Folge hat (Fig. 144).

Auf dem nächstfolgenden der bei mir abgebildeten Stadien hat der Kern der Spermatide das Aussehen einer dünnwandigen, hohlen Chromatinkugel. Nur an dem einen Pol bemerkt man einen nicht von dem Chromatin eingenommenen Bezirk, wo die Wandung der Kugel von der Kernhülle allein gebildet wird. Von diesem Pol des Kernes geht der Achsenfaden aus, an dessen Basis zwei Punkte zu sehen sind, welche augenscheinlich den optischen Schnitt des die Basis des Achsenfadens umgebenden ringförmigen Gebildes darstellen (ein Derivat eines Centralkörperchens?). Schon auf diesem Stadium kann man in dem Plasma bisweilen einen schwarzen Punkt bemerken, dessen Rolle aus dem nachstehenden ersichtlich sein wird. Die sphärischen Chondriosomen liegen um die Basis des Achsenfadens gruppiert (Fig. 145)

Gleich darauf beginnt die Verlagerung der Chromatinmasse nach demjenigen Pole des Kernes, von dem der Achsenfaden abgeht, und welchen wir nunmehr als den hinteren Pol bezeichnen können. Auf der Fig. 146 ist dieser Vorgang erst angedeutet, auf der Fig. 147 ist er schon bedeutend weiter vorgeschritten und auf der Fig. 148 hat er bereits sein Ende erreicht. Wir sehen hier eine scharf ausgesprochene Teilung des Kernes in einen hinteren Abschnitt, welcher das Aussehen einer dicken Chromatinplatte besitzt und in einen vorderen, der fast ausschließlich durch die Kernhülle gebildet wird, die die vordere Fläche der Chromatinplatte mützenförmig bedeckt. Der vordere Abschnitt wird immer kleiner (Fig. 149) und verschwindet endlich ganz, während die Chromatinplatte sich gleichzeitig in ein Rotationsellipsoid verwandelt (Fig. 150, 151).

Gleichzeitig unterliegen die Chondriosomen nachstehenden Veränderungen. Sie sammeln sich an der Basis des Achsenfadens, welchen sie in Gestalt eines Ringes eng umfassen (Fig. 149). Hierauf verschmelzen sie zu einem Körper, welcher eine zuckerhutförmige Gestalt hat und von dem Achsenfaden durchzogen wird (Fig. 150, 151).

Wir haben gesehen, daß schon auf dem Stadium der Fig. 145 in dem Plasma der Spermatide ein punktförmiges Gebilde auftreten kann. Auf den darauffolgenden Stadien figuriert dasselbe in Gestalt eines kleinen Kügelchens, welches nach Heidenhain scharf gefärbt wird (Fig. 149). Wenn der Kern der Spermatide sich in das Chromatin-Rotationsellipsoid verwandelt, erweist sich das uns beschäftigende Gebilde als an dessen vorderem Pole liegend, wobei es nicht selten die Gestalt einer Hantel annimmt, deren Längsachse tangential zur Kernoberfläche orientiert ist (Fig. 150). Hierauf geht die tangentiale Lage in die normale über, die eine Hälfte der Hantel verschmilzt mit dem vorderen Pol des Kernes und zieht sich zu einem Stiele aus, an welchem die andre Hälfte in Gestalt eines Kopfes aufsitzt. Es ist nunmehr vollständig klar, daß wir die Anlage des Perforatoriums vor uns haben (Fig. 151).

Die Fig. 152—154 zeigen uns die weitere Verwandlung der Spermatide. Der Kern streckt sich allmählich von vorn nach hinten in die Länge, wobei er schließlich (im optischen Längsschnitt) die Gestalt einer Lanzenspitze annimmt. Der durch die Verschmelzung der vier Chondriosomen entstandene Körper streckt sich längs dem Achsenfaden in die Länge, indem er in dem Mittelstück des Spermatozoons den Belag des Fadens bildet. In der Anlage des Perforatoriums geht der Unterschied zwischen Kopf und Stiel allmählich verloren, indem die Anlage sich in ein stäbchenförmiges Gebilde verwandelt. Die Menge des den Kopf umgebenden

Plasmas wird immer geringer; schließlich bleibt hier augenscheinlich gar kein Plasma mehr übrig.

Die Fig. 145 stellt ein reifes eupyrenes Spermatozoon dar, welches nach Retzius gefärbt wurde. Sein lanzenspitzenförmiger Kopf endet vorn mit einem konischen Perforatorium. Auf den Kopf folgt zuerst das Mittelstück, welches, wie wir gesehen haben, hauptsächlich aus einem Derivat der Chondriosomen besteht, hierauf der Endabschnitt. Was den Achsenfaden betrifft, so ist nur sein vorderer, in den Kopf eindringender Teil zu sehen.

Ich habe noch auf nachstehende Einzelheiten der hier besprochenen Vorgänge der Spermiogenese hinzuweisen. In seltenen Fällen, meist auf den Anfangsstadien der Konzentration des Chromatins in dem hinteren Abschnitt des Kernes, kann man in der Höhlung dieses letzteren das Vorhandensein eines kleinen Kernkörperchens bemerken (Fig. 146). Offenbar besteht diese Bildung nur sehr kurze Zeit hindurch und verschwindet dann spurlos.

Für gewöhnlich sind alle vier Chondriosomen sofort nach dem Auftreten des Achsenfadens an dessen Basis gruppiert. Bisweilen kann man einzelne Chondriosomen indessen abgesondert an irgendwelchen andern Stellen des Protoplasmas antreffen, in seltenen Fällen sogar an dem gegenüberliegenden (vorderen) Kernpole, wie dies auf der Fig. 148 angegeben ist. Diesem Umstande kommt indessen offenbar keine besondere Bedeutung zu, und alle Chondriosomen erweisen sich schließlich an der ihnen zukommenden Stelle.

II. Die atypische Reihe (Fig. 172—200; 156—168).

Wie wir weiter unten sehen werden, erfolgt die Verwandlung der jungen Spermatocyte in den reifen Samenkörper in der atypischen Reihe ohne Teilung der Zelle. Es ist daher unmöglich, in der Entwicklungsgeschichte der apyrenen Spermatozoen von *Vermetus* zwischen der Wachstumsperiode und der Spermiogenese eine scharfe Grenze zu ziehen.

Da indessen die atypische Geschlechtszelle unsres Vertreters, nach Analogie mit den männlichen Geschlechtselementen bei *Paludina*, *Murex* und *Conus*, von dem Augenblicke an als Spermatide angesehen werden kann, wo ihre Centriolen nach der Vermehrung anfangen Fäden zu bilden, so wollen wir denn auch dieses Stadium für den Beginn der Spermiogenese ansehen und die auf früheren Entwicklungsstadien begriffene Zelle als Spermatocyte bezeichnen.

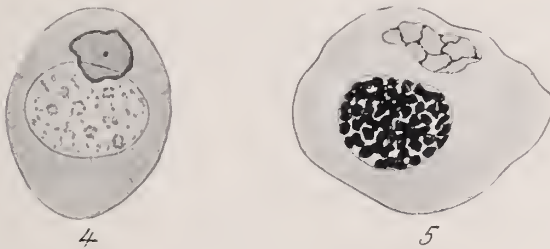
Die Wachstumsperiode (Fig. 172—184).

Wir haben die soeben zur Bildung gelangten Spermatocyten bereits kennen gelernt, welche sich durch nichts von den Spermatogonien unterscheiden (Fig. 111) und offenbar den gemeinsamen Ausgangspunkt für die typischen wie auch für die atypischen Spermatozoen bilden.

Ihre ersten Veränderungen in der atypischen Reihe bestehen darin, daß die Zelle merklich an Größe zunimmt, wobei die relative Protoplasmamenge anwächst (Fig. 172—174).

In der Fig. 175 erblicken wir eine Spermatocyte mit einer beträchtlichen Menge von besonderem, dunkler gefärbtem Plasma, welches mit seiner größten Masse dem Kerne an einem seiner Pole aufliegt und sich

Textfig. 4 u. 5.



auf einer Seite des Kernes auch in Gestalt einer dünneren Schicht auf dessen Oberfläche ausbreitet. In der Mitte seiner polaren Anhäufung (Idiozom) kann man einen dunkleren Punkt — das Centriol — bemerken.

Das Idiozom zieht sich allmählich zu einem sphärischen Körper zusammen, in dessen Mittelpunkt sich das häufig von einer hellen Zone umgebene Centriol befindet (Fig. 176). An der Peripherie des Idiozoms ist bald eine ununterbrochene dunklere Schicht von Plasma zu sehen, welche gleichsam eine das erstere umgebende Kapsel bildet (Textfig. 4), bald dagegen dunkle linerae Bildungen, die tangential gerichtet sind und augenscheinlich in innigster Berührung mit dem Idiozom stehen (Fig. 176). In vereinzelten Fällen kann man an der Oberfläche des Idiozoms ein deutliches Netz bemerken, welches durch Eisenhämatoxylin dunkel gefärbt wird (Textfig. 5).

Allmählich beginnen die erwähnten linearen Gebilde von der Oberfläche des Idiozoms wegzurücken und erscheinen dann in Gestalt gerader oder etwas gekrümmter stäbchenförmiger Elemente, welche normal orientiert oder etwas zur Oberfläche des Idiozoms geneigt sind (Fig. 178, 179).

Etwas später können diese Elemente in einiger Entfernung von dem Idiozom in dem Plasma liegen.

Während des Verlaufes der beschriebenen Prozesse weist der Bau des Kernes keinerlei charakteristische und gesetzmäßige Veränderungen auf. Nur selten kann man bemerken, daß die sonst gleichmäßig über das Lininnetz zerstreuten Chromatinkörnchen in ziemlich regelmäßigen Reihen angeordnet sind, gleichsam als bereite sich das sogenannte leptotene Stadium vor (Fig. 179). Die Zelle streckt sich allmählich in die Länge.

Die Fig. 180 zeigt uns das darauffolgende Stadium in der Entwicklung der Spermatocyte. Das Kernchromatin legt deutlich die Tendenz an den Tag, sich zu einer ganzen Anzahl ringförmiger Gruppen zusammenzutun. Die das Idiozom umgebenden stäbchenförmigen Elemente haben sich ganz von ersterem emanzipiert (das Idiozom ist, als außerhalb der Ebene des betreffenden optischen Schnittes liegend, auf der Figur nicht abgebildet) und in ringförmige Elemente verwandelt. Dabei erfahren sie augenscheinlich eine Längsspaltung, wobei die Produkte dieser Spaltung an ihren Enden miteinander verbunden bleiben.

Das auf Fig. 182 dargestellte Bild ist außerordentlich häufig anzutreffen und entspricht offenbar einer gewissen Pause in der Entwicklung. Die Gruppen von Chromatinkörnchen des vorangehenden Stadiums (Fig. 180) haben sich in massive Chromatinelemente verwandelt. Sie besitzen die Gestalt unregelmäßiger Ringe, Quadrate, usw. Die Hülle des Kernes tritt an dessen gesamter Peripherie deutlich hervor. Das unregelmäßig lappenförmige Idiozom enthält zwei Centriolen. Die auf den vorhergehenden Stadien vorhanden gewesenen ringförmigen oder zarten stäbchenförmigen Elemente können meist nicht mehr unterschieden werden. Dagegen sieht man an verschiedenen Stellen des Plasmas ein, zwei oder drei viel stärkere Stäbchen, welche durch Eisenhämatoxylin stark gefärbt werden. Dieselben sind gewöhnlich von ungleicher Dicke, bald an einem, bald an beiden Enden dünner werdend.

Was die Herkunft dieser Elemente betrifft, so tauchen sie mitten im Protoplasma auf, indem sie anfangs, bisweilen schon auf früheren Stadien (vgl. Fig. 177, 180), als schwach färbbare Gebilde sichtbar werden. Soweit ich mich hiervon überzeugen konnte, haben diese Gebilde keine Beziehungen zu jenen Elementen, welche zuerst an der Peripherie des Idiozoms auftreten. Auf späteren Stadien gelangen diese wie auch jene Elemente nur als seltene Ausnahmen zur Beobachtung.

Eine Zweiteilung des ursprünglich einzigen Centriols kann man auf der Fig. 181 bemerken, wo auch eine deutliche Centrodesmose vorhanden ist.

Auf der Fig. 183 sehen wir ein Idiozom mit zahlreichen Centriolen, welche höchstwahrscheinlich durch weitere Teilungen der zwei Centriolen des vorhergehenden Stadiums (Fig. 182) hervorgegangen sind. Der Kern bewahrt einstweilen seinen bisherigen Charakter bei.

Auf der Fig. 184 treffen wir die darauffolgende Phase in der Entwicklung des Kernes an. Seine Hülle ist spurlos verschwunden, allein die früher zur Bildung gelangten Chromatinelemente bleiben wie zuvor in Gestalt einer sphärischen Anhäufung bestehen.

Von großem Interesse sind jene seltenen Fälle, wo in den Spermatocyten der atypischen Reihe gleichsam Versuche einer Teilung beobachtet werden. Eine ganze Reihe solcher Fälle ist auf den Fig. 156—168 abgebildet.

Auf der Fig. 158 sehen wir eine Spermatocyte mit blasigem Kern, dessen Chromatin zu scharf abgegrenzten wurstförmigen Elementen vereinigt ist, gleichsam als bereite sich die Bildung einer Äquatorialplatte vor. Ähnliche Elemente, allein von unregelmäßiger Gestalt, finden wir in dem Kern auf der Fig. 167.

Chromosomen von dem üblichen Aussehen, einfache oder doppelte, erblicken wir freiliegend in dem Plasma der Zelle auf den Fig. 164, 160, 159. Sehr selten trifft man Spermatocyten, bei denen die Chromosomen zu Gruppen verschiedener Größe vereinigt sind, welche innerhalb kleiner Vacuolen liegen (Fig. 161).

Abgesehen von dem Vorhandensein typischer Chromosomen, können die Versuche einer Teilung der Spermatocyten auch noch durch das Auftreten einer oder mehrerer »Halbspindeln« in dem Plasma gekennzeichnet sein, welche von den Centriolen ausgehen (Fig. 156, 157, 163, 165, 166, 167, 168). Dabei nehmen die Centriolen stets eine periphere Lage ein und erscheinen bald in Gestalt einzelner runder Körperchen (Fig. 157, 165 bis 168), bald in Gestalt tangential orientierter kleiner Scheibchen (Fig. 156) bald endlich in Gestalt von in einer Fläche angeordneten Gruppen von Pünktchen (Fig. 163 unten).

Bisweilen bemerkt man eine Tendenz der Chromosomen, sich zu einer Äquatorialplatte an der Basis der achromatischen Halbspindel anzuordnen (Fig. 165, 166).

Ein einziges Mal ist es mir gelungen, eine atypische Spermatocyte mit vollständiger achromatischer Spindel und Äquatorialplatte anzutreffen, in der indessen keine einzelnen Chromosomen zu unterscheiden waren (Fig. 162).

Die Spermiogenese (Fig. 185—200).

Auf den nächstfolgenden Stadien erweisen sich die Chromatinelemente ohne Ordnung über das Protoplasma zerstreut, wobei ihre Gestalt eine sehr verschiedene sein kann. Bald bewahren sie das Aussehen mehr oder weniger massiver Ringe, bald sind sie zu einem kurzen Stäbchen ausgezogen, bald sammeln sie sich zu einem Klümpchen, bald endlich verschmelzen sie zu mehreren, um verhältnismäßig große Klumpen zu bilden (vgl. Fig. 185—190). Anderseits haben sie die Fähigkeit sich auch zu teilen, wobei die auseinandertretenden Hälften des Mutterelementes eine gewisse Zeit hindurch vermittels eines achromatischen Fadens miteinander verbunden bleiben (Fig. 194).

Inzwischen beginnen die Centriolen eine schaffende Tätigkeit an den Tag zu legen. Wir sehen auf der Fig. 185, daß von jedem Centriol ein kurzer Faden ausläuft, welcher nach dem Innern des Zellkörpers gerichtet ist. Auf der Fig. 186 sind diese Fäden schon beträchtlich länger geworden. Viel Interesse bietet die Fig. 187: in diesem Falle erweisen sich unsere Fäden als Centrodesmosen zwischen Paaren von Tochtercentriolen, welche durch Teilung aus den auf Fig. 183 abgebildeten Centriolen hervorgegangen sind. Links von dem Bündel paralleler Fäden beobachten wir auf der Fig. 187 die ersten Schritte zu einem entsprechenden Vorgange: hier finden sich zwei Komplexe von Centriolen, wobei die paarigen Tochterelemente noch biskuitförmige Figuren bilden.

Die anfangs recht häufig ein divergierendes System von Linien bildenden Fäden nähern sich einander nach und nach, um ein Bündel parallel gerichteter Elemente zu bilden, welches in der längsgestreckten Zelle eine axiale Lage einnimmt (Fig. 189, 192). Man kann es als Regel ansehen, daß das Wachstum der Fäden in der Richtung von dem durch die ursprüngliche Lage der Centriolen gekennzeichneten Ende nach dem entgegengesetzten Ende der Zelle fortschreitet (Fig. 186, 187). Sehr häufig kann man Fälle antreffen, wo das axiale Faserbündel nach beiden Enden des Plasmakörpers ausläuft, ohne dessen Grenzen zu überschreiten (Fig. 192, 193). Nicht selten trifft man aber auch solche Zellen an, bei denen die inneren Enden der wachsenden Fäden die Mitte des Zellkörpers noch nicht überschritten haben, während die äußeren Enden schon frei aus dem Plasma heraushängen (Fig. 189). In solchen Fällen kann man sich bisweilen davon überzeugen, daß nahe von der Oberfläche des Körpers Centriolen an den Fäden sitzen (Fig. 189).

Als eine seltene Ausnahme ist der auf Fig. 190 dargestellte Fall zu betrachten. Wir sehen hier, daß die Fäden außerhalb des Zellkörpers

eine beträchtliche Länge erreichen, wobei sie ihren Anfang von einer Reihe Centriolen nehmen, welche an der Oberfläche selbst des Zellkörpers gelegen sind, während nach dem Innern des Potroplasmas von den gleichen Centriolen nur kurze Abschnitte ausgehen.

Ein Teil der Fäden des axialen Bündels tritt, indem er an den zerstreut im Plasma liegenden Chromatinelementen vorbeigeht, in einigen Fällen zweifellos in Verbindung mit diesen letzteren. Sehr lehrreich ist in dieser Beziehung die Fig. 191, welche den Teil eines schrägen Schnittes durch eine atypische Spermatide darstellt. Mit der größten Deutlichkeit sehen wir in der Mitte der Zeichnung einige Abschnitte von Fäden, welche mit Chromatinelementen verlötet sind. Ich möchte die Aufmerksamkeit namentlich auf die beiden äußersten Paare, rechts und links, der parallelen Fäden lenken. An einem jeden derselben hängt je ein halbmondförmiges Chromatinelement, wobei die Enden des Halbmondes direkt in die Fäden übergehen, mit denen sie ein ununterbrochenes Ganzes bilden (Fig. 191). Einen ebensolchen Chromatinhalbmond, welcher mit einem später in das Achsenbündel eintretenden Fadenpaare verkittet ist, sehen wir auch auf der Fig. 193 (links).

Die Fig. 192 stellt einen Längsschnitt durch eine atypische Spermatide mit einem axialen Faserbündel dar, welche anfängt, die definitive Gestalt eines Samenkörpers anzunehmen. Die Chromatinelemente sind ohne sichtliche Ordnung über den Schnitt verteilt, in dem Plasma sind Vacuolen von verschiedener Größe aufgetreten. Es ist dies das Stadium, welches dem Beginn der Bildung von Eiweißkugeln in dem Zellkörper vorangeht.

Auf den darauffolgenden Stadien sammelt sich der größte Teil der Chromatinelemente im Centrum der Zelle (Fig. 193, 195) zu einer Anhäufung unveränderten Protoplasmas an. Es beginnt ein energischer Prozeß der Ablagerung von deutoplasmatischem Eiweiß. Die einzelnen Phasen dieses Vorganges lassen sich am besten an der Hand von Querschnitten durch die Mitte der Spermatide verfolgen (Fig. 195—197).

Wir sehen auf der Fig. 195, daß die Vacuolen in dem Protoplasma sehr bedeutende Dimensionen erreicht haben. Das Protoplasma hat sich nur längs der Zellachse und in Gestalt von Scheidewänden zwischen den einzelnen mehr oder weniger radiär angeordneten Vacuolen erhalten. Eine dünne Plasmaschicht umgibt den Zellkörper in Gestalt einer Hülle. Die Vacuolen sind mit einem wässerigen Inhalt erfüllt, welcher bei dem Fixieren gerinnt. Dabei gelangen bald unregelmäßig geformte Verdichtungen zur Ausbildung, welche das Lumen der Vacuolen bei weitem nicht ausfüllen, bald nimmt der ganze Inhalt der Vacuolen das Aussehen einer

ununterbrochenen wabigen Masse an. Höchst wahrscheinlich wird man diese Unterschiede auf den verschiedenen Grad der Konzentration der Eiweißlösung zurückzuführen haben, welche die einzelnen Vacuolen erfüllt. Die nicht in den Bestand der centralen Chromatinanhäufung aufgegangenen Chromatinelemente liegen längs den plasmatischen Scheidewänden zwischen den Vacuolen zerstreut.

Auf der Fig. 196 treffen wir das darauffolgende Stadium in der Bildung der Eiweißkugeln an. In einigen Vacuolen sieht man eine kompakte homogene alveolare Masse des beim Fixieren gefällten Eiweißes. In andern Vacuolen finden sich inmitten einer solchen Masse kleine sphärische Körperchen, welche durch Eisenhämatoxylin gefärbt und von hellen, homogenen Hüllen umgeben sind. Diese Gebilde nun stellen offenbar keine Kunstprodukte dar, sondern sie sind die Anlagen der Eiweißkügelchen, welche sich allmählich aus der Lösung »herauskristallisieren«. Wir sehen gleichzeitig, wie die in der centralen Protoplasmamasse liegenden Chromatinelemente an Größe abgenommen haben.

Die Fig. 197 stellt einen Querschnitt durch einen Samenkörper mit fertigen Eiweißkügelchen dar, welcher etwa die Mitte der Zelle getroffen hat. Die centrale Protoplasmaanhäufung ist stark reduziert, dafür aber gleichmäßig über die ganze Schnittfläche verteilt. Innerhalb derselben liegen Eiweißgebilde von verschiedener Größe zerstreut. Einige derselben besitzen nur ein einziges großes sphärisches Körperchen in ihrer Mitte, welches von Eisenhämatoxylin intensiv gefärbt wird, andre außerdem noch eine Reihe kleinerer solcher Körperchen. Auf Grund der Dimensionen der Eiweißgebilde wird man darauf schließen müssen, daß in den einzelnen Vacuolen der vorangehenden Stadien sowohl je ein größerer wie auch je mehrere kleine Körper zur Bildung gelangen können.

Die Fig. 198 stellt den Teil eines Längsschnittes durch einen Samenkörper mit ausgebildeten Eiweißkügelchen dar, welcher ungefähr durch die Mitte der Zelle geführt ist. Bei der gegebenen Bearbeitung des Materials (Fixierung nach Hermann, Färbung nach Heidenhain mit weitgehender Entfärbung und darauffolgender Nachfärbung mit Lichtgrün) erweisen sich die sphärischen Gebilde im Innern der Eiweißkugeln als gänzlich farblos, aber von einer dunklen Zone (vom Lichtgrün) umgeben. Von dem Kernchromatin sind nur kleine, auf der Oberfläche des axialen Faserbündels zerstreut liegende Körnchen übrig geblieben.

Eine bereits ganz apyrene Zelle treffen wir auf der Fig. 199 an (Längsschnitt): hier sind jegliche Spuren von Chromatin verschwunden. Das axiale Bündel ragt mit seinen Enden weit über die Grenzen des Spermienkörpers hinaus.

Auf der Fig. 200 ist eine atypische Spermie von *Vermetus* abgebildet, welche ihre volle Ausbildung erreicht hat (Totalpräparat). Wir sehen hier einen längsgestreckten ovalen Körper, welcher dicht mit Eiweißkugeln angefüllt und längs seiner Achse von dem Faserbündel durchzogen ist. Die Länge dieses letzteren übertrifft diejenige des Protoplasmakörpers um ein Mehrfaches. Während das axiale Bündel innerhalb dieses letzteren eine gewisse Dicke erreicht, wird es bei seinem Austritt aus demselben nach den Enden hin allmählich immer dünner.

Die kugelförmigen Körper der atypischen Spermien werden von sauren Farben gefärbt (Lichtgrün, Eosin), mit Ausnahme der runden Gebilde in ihrem Innern; nach Heidenhain werden umgekehrt nur diese letzteren gefärbt. Chromatinfarben werden von den kugelförmigen Körpern nicht aufgenommen. Ebenso lassen diese sich weder mit Sudan III noch mit Osmiumsäure färben. Bei der Einwirkung von Speichel treten keine sichtbaren Veränderungen in ihnen ein. In 0,3% Salzsäure verbracht, quellen sie kaum auf. Nach der Überführung in künstlichen Magensaft (Pepsinlösung in 0,3% Salzsäure) lösen sie sich sehr rasch rückstandslos auf, wobei die kugelförmigen Körperchen in ihrem Innern der Einwirkung der proteolytischen Flüssigkeit etwas länger widerstehen. Das hier Mitgeteilte genügt wohl, um auf die Eiweißnatur der kugeligen Körper in den apyrenen Spermien von *Vermetus* schließen zu lassen.

Die Massenbildung von Eiweißkugeln beginnt gewöhnlich auf verhältnismäßig späten Stadien, wenn die Fasern sich schon zu einem Bündel versammelt haben, welches von einem Ende der langgestreckten Zelle bis zum andern verläuft. Das Auftreten einzelner Vacuolen und kugelförmiger Gebilde in denselben kann man aber auch schon viel früher beobachten (vgl. Fig. 185, 186, 187, 188). Die um diese Zeit aufgetretenen Kugeln sind gewöhnlich vollständig homogen.

Ich habe schon darauf hingewiesen, daß die aus zarten stäbchenförmigen Elementen entstandenen ringförmigen Gebilde im Plasma der Spermatide meist noch vor dem Verschwinden der Kernhülle aufhören sichtbar zu sein. Die Fig. 188 illustriert einen Fall, wo man diese Gebilde in einer Spermatide mit im Plasma zerstreut liegenden Chromatinelementen beobachten kann. Hier befindet sich auch eines der massiveren Stäbchen. Von diesem letzteren geht in das Innere des Plasmas eine zarte parallel verlaufende Strichelung aus, deren Bedeutung schwer zu bestimmen ist. Es ist dies das älteste der Stadien, auf denen die erwähnten Gebilde noch zu sehen waren. Auch das Idiozom hört bald nach dem Auftreten der aus den Centriolen hervorwachsenden Fäserchen auf sichtbar zu sein.

Beobachtungen, welche an lebenden apyrenen Spermien angestellt wurden, haben gezeigt, daß dieselben völlig unbeweglich sind.

Die Fig. 171, welche den Teil eines Längsschnittes durch einen Samendrüsenschlauch von *Vermetus* etwas schematisiert wiedergibt, ist geeignet, einen Begriff von der Verteilung der verschiedenen Kategorien von Zellelementen zu geben (die Bezeichnungen siehe in der Erklärung der Tafeln). Wir ersehen aus dieser Figur, daß, während die Vertreter der typischen Reihe meistens zu kompakten beträchtlichen Anhäufungen auf dem gleichen Entwicklungsstadium befindlicher Zellen vereinigt sind, die atypischen Elemente entweder einzeln, oder zu kleinen, lockeren Gruppen vereinigt angetroffen werden. Die fertigen, oder fast fertigen Spermatozoen von beiderlei Art sind längs der Achse des Samenganges angeordnet.

Hiermit beschließe ich die Beschreibung der Entwicklung der Samenkörperchen bei *Conus* und *Vermetus*. In dem nachstehenden allgemeinen Teile meiner Arbeit werde ich den Versuch unternehmen, die von mir erzielten Resultate mit demjenigen zu vergleichen, was über die Spermatogenese bei den übrigen Mollusken bekannt ist, und gleichzeitig einige Fragen allgemeinen Charakters berühren, welche auf den Gegenstand und die Ergebnisse meiner Untersuchungen Bezug haben.

Allgemeiner Teil.

Die Zellenelemente des Keimepithels.

Die älteren Autoren, welche die Spermatogenese bei den Mollusken untersucht haben, waren der Ansicht, daß die Spermatogonien von den Basalzellen hervorgebracht werden. Dabei hatten Keferstein (1862—1866) und Duval (1879) angenommen, daß die Spermatogonien durch endogene Bildung von Kernen in dem Plasma der Basalzellen entstehen, während v. Brunn (1884) sie durch Teilung des Kernes der Basalzellen hervorgehen ließ. Der Ansicht dieses Autors haben sich späterhin auch Koehler (1888) und Auerbach (1896) angeschlossen.

Bloomenfield (1881) war der erste, der die umgekehrte genetische Beziehung zwischen den Elementen beider Kategorien feststellte. Seiner Auffassung nach entstehen die Basalzellen selbst aus den Spermatogonien. Diesen Gesichtspunkt teilen auch Platner (1885, 1886a) und Prowazek (1901).

Lee (1897), Ancel (1903), de Bruyne (1903) und Kleinert (1909) haben eine etwas abweichende Auffassung von den gegenseitigen Be-

ziehungen zwischen den geschlechtlichen und den Basalzellen. Die Elemente beiderlei Art haben ihrer Ansicht nach einerlei Ursprung, und zwar aus den indifferenten Zellen des Keimepithels.

In der männlichen Genitaldrüse von *Conus* und *Vermetus* kann man die drei erwähnten Kategorien von Elementen leicht unterscheiden: die indifferenten Elemente des Keimepithels, welche durch eine Anzahl in der gemeinsamen Plasmamasse versenkter Kerne dargestellt sind; die verhältnismäßig enorm großen Basalzellen mit scharf ausgesprochenen Zellgrenzen, welche ebenfalls einen Teil des Keimepithels ausmachen; endlich die Spermatogonien, welche bereits außerhalb dieser letzteren an der Peripherie des Lumens der Samengänge liegen. Es ist mir auch gelungen, die Bildung der Basalzellen aus den indifferenten Elementen bei *Vermetus* zu verfolgen.

Ebenso war ich bemüht, an diesem Vertreter der Mollusken festzustellen, ob die Basalzellen bei dieser Tierklasse in der Tat die Befähigung zur mitotischen Teilung völlig eingebüßt haben, wie dies von Bloomenfield (1881), Platner (1885), Prenant (1888) und de Bruyne (1903) behauptet worden ist. Ich bin dabei zu dem Schlusse gelangt, daß die jungen, noch verhältnismäßig kleinen Basalzellen allerdings die Fähigkeit besitzen, sich auf mitotischem Wege zu teilen; diejenigen Basalzellen indessen, welche ihre volle Entwicklung erreicht haben, machen zwar den Versuch zu einer solchen Teilung, führen den mitotischen Prozeß aber niemals bis zu seinem Ende.

Es ist von Interesse, sich der Betrachtungen von Peter (1899) zu entsinnen, welcher auf die Tatsache hingewiesen hat, daß in den Nährzellen (Sertolischen Zellen) der Geschlechtsdrüsen keine indirekte Teilung beobachtet wird, dagegen aber in einer Reihe von Fällen eine Amitose beschrieben worden ist. Nach der Ansicht dieses Autors »ist der Zelle während der Mitose zufolge der Konzentration des Chromatins die Möglichkeit genommen, sich selbst zu ernähren oder ihr Nährmaterial sich zuzubereiten — darf sie diese Funktion nicht aufgeben und liegt trotzdem die Notwendigkeit einer Vermehrung vor, so kann eben die Kondensierung des Chromatins nicht eintreten — die Mitose bleibt aus und der Kern teilt sich direkt. Dieser Fall tritt für die Nährzellen des Hodens ein.«

Was die Versuche einer mitotischen Teilung der Nährzellen betrifft, so sind solche schon öfters in der Gruppe der Arthropoda festgestellt worden (Woltereck, 1898, bei *Cypris*; Giardina, 1901, Günthert, 1910, bei *Dytiscus*; Foot und Strobell, 1911, bei *Protenor*). In allen diesen Fällen handelt es sich höchst wahrscheinlich um einen rudimentären Prozeß, wie dies schon von Woltereck und Giardina hervorgehoben wurde.

Die Entwicklung der typischen Spermatozoen.

Die Reifungs- und Wachstumsperiode.

Der Verlauf der Entwicklung der Spermatocyten in der Periode, welche der Bildung der Äquatorialplatte der ersten Reifungsteilung vorangeht, zeigt sowohl bei *Conus* wie auch bei *Vermetus* große Übereinstimmung mit den entsprechenden Vorgängen bei *Paludina*, wie sie von Meves (1900, 1902) beschrieben worden sind. Auch in unserm Falle ist es nicht möglich, die Periode des Wachstums von der Periode der Reifung scharf abzugrenzen, indem von allem Anfange des Wachstums der jungen Spermatocyte an bereits die Vorbereitung zur ersten Teilung im Gange ist. Mit Meves bin ich der Ansicht, daß alle von dem Chromatin während der sogenannten Wachstumsperiode der Spermatocyten durchgemachten Metamorphosen denjenigen Verwandlungen völlig homolog sind, welche während der Prophase der somatischen Mitosen stattfinden, mit dem alleinigen Unterschiede, daß die Zahl der Chromatinsegmente hier nur die Hälfte erreicht, und daß die Bildung der mitotischen Figur in verlangsamtem Tempo vor sich geht.

Wie dies nach Meves für *Paludina* der Fall war, so bin auch ich für *Conus* und *Vermetus* schließlich zu der Überzeugung gelangt, daß das Stadium der Synapsis ein Kunstprodukt darstellt. Allerdings ist dasselbe auf meinen Präparaten recht häufig anzutreffen und ich konnte sogar eine Serie von Zeichnungen zusammenstellen, welche den Übergang von dem leptotenen zu dem Synapsisstadium und die darauffolgende Auflösung dieses letzteren in das Bukettstadium gleichsam illustrieren. Als ich indessen beschlossen hatte, nur die schmalen peripheren Zonen der Schnitte in Betracht zu ziehen und dazu noch ausschließlich nach Fixierung mit Osmiummischungen, waren die »Synapsis«-Figuren gänzlich verschwunden. Bei dieser Konservierungsweise des Materials treten diese Figuren überhaupt nur in verhältnismäßig geringer Menge auf. Die größte Anzahl derselben bildet sich nach der Einwirkung der Carnoyschen Flüssigkeit.

Das Stadium der Synapsis ist bei der Spermatogenese der Pulmonaten mehrfach beobachtet worden. So beschreibt Prenant (1888) dieselbe in den Spermatocyten von *Arion*, Ancel (1903) und Soós (1910) in denjenigen von *Helix*. Lee (1897) sah auch entsprechende Bilder in der Spermatogenese bei *Helix*, kam aber auf Grund seiner Erfahrung an lebendem Material zu der Überzeugung, daß es sich hier um eine pathologische Erscheinung handle. Kleinert (1909) fand das Stadium der Synapsis nicht während der Wachstumsperiode, sondern während der

Periode der Vermehrung der Spermatogonien. Demoll (1912) hält die Erscheinung der Synapsis in den Spermatocyten von *Helix* für ein Ergebnis der Fixierung.

Wir sehen demnach, daß zwischen den Autoren Meinungsverschiedenheiten bestehen, sowohl in betreff des Vorhandenseins einer Synapsis bei den Pulmonaten, wie auch inbetreff derjenigen Periode in der Entwicklung der männlichen Geschlechtselemente, auf welche dieses Stadium bezogen werden muß. Ich vermute, daß es sich bei genauerem Studium herausstellen wird, daß auch in dieser Gruppe, wie bei den Prosobranchia, die Synapsis als normale vitale Erscheinung nicht existiert.

Ich will hier nicht näher auf die Frage über das wirkliche Vorhandensein einer Synapsis bei den Vertretern andrer Gruppen des Tierreiches eingehen, und verweise den Leser einerseits auf die Arbeit von Meves (1907) und anderseits auf diejenige von Jordan (1911). Ich muß indessen bemerken, daß ich das Vertrauen dieses letzteren Autors zu den positiven Ergebnissen der Beobachtungen an »lebenden« Geschlechtszellen nicht teilen kann. So verführerisch diese Methode in der Theorie auch sein mag, so bedarf es doch einer außerordentlichen Vorsicht bei der Bewertung ihrer Resultate, indem man stets die Möglichkeit eines raschen Eintretens von nekrobiotischen Erscheinungen in den unreifen Geschlechtselementen in Betracht ziehen muß, wenn letztere in ungewöhnliche Existenzbedingung verbracht werden.

Wie dies aus der ausführlichen Beschreibung der Vorgänge während der uns beschäftigenden Periode in der Entwicklung der Spermatocyten hervorgeht, differenzieren sich die Chromosomen der ersten Reifungsteilung bei *Conus* und *Vermetus* allmählich aus den schon auf dem Stadium des Buketts vorhandenen Chromatinsegmenten. Ebenso verhält es sich nach der Beschreibung der meisten Autoren auch bei den übrigen Mollusken. Vereinzelt stehen in dieser Beziehung nur Platner (1889), Soós (1910) und Demoll (1912) da.

Platner gibt nachstehende Beschreibung von der Bildung der Chromosomen der ersten Reifungsteilung bei *Limax*. Aus dem Kernnetz entsteht ein typischer Knäuel. Hierauf beginnt die Segmentation dieses Knäuels in der Weise, daß derselbe in seine kleinsten Elemente, die Mikrosomen, zerfällt. Diese letzteren vereinigen sich zu größeren Elementen, und es bilden sich allmählich die Elemente der zukünftigen Äquatorialplatte.

Nach den Angaben von Soós (1910) verteilen sich die Chromatinelemente bei *Helix* nach dem Stadium des Buketts gleichmäßig innerhalb des Kernes, wobei sie ein Netz bilden (vgl. seine Fig. 4 u. 5, Taf. VIII).

Dabei bemerkt man eine plötzliche starke Vergrößerung der Zelldimensionen. Unser Autor ist der Meinung, daß der Kern sich um diese Zeit im Ruhezustande befindet. Die Bildung der Chromosomen der ersten Reifungsteilung erfolgt durch Verdichtung des Chromatins in den Knotenpunkten des Kernnetzes. Diese Beobachtungen von Soós werden auch durch Demoll (1912) durchaus bestätigt.

Sind die Angaben der erwähnten Autoren richtig, so haben wir es bei *Limax* und *Helix* mit dem äußerst seltenen Falle zu tun, wo das bei der Oogenese der verschiedensten Formen so gewöhnliche sichtbare Verschwinden der zur Bildung gelangten Chromatinelemente, mit nachfolgendem Auftreten der definitiven Chromosomen der ersten Äquatorialplatte aus dem zerstreuten Chromatin des ruhenden Kernes, auch bei der Spermatogenese zur Beobachtung gelangt. Soós vermochte in der auf die Spermatogenese bezüglichen Literatur nur eine einzige, der von ihm beschriebenen analoge Beobachtung aufzufinden (Schleip, 1909, *Notodromas monacha*). Das gleiche findet nach Blackmann (1905) auch in den »großen« Spermatocyten bei *Scolopendra* statt.

Die meisten neueren Autoren läugnen das Vorhandensein eines Stadiums des ruhenden Kernes zwischen der ersten und zweiten Reifungsteilung bei den Mollusken (so z. B. Prowazek, 1901; Meves, 1902; Kleinert, 1909). Das Vorkommen dieses Stadiums in der Spermatogenese bei *Helix* wird von Murray (1898) angenommen. Nach der Beschreibung von Soós (1910) kann dieses Stadium in der Spermatogenese bei *Helix* bald vorhanden sein, bald fehlen. In der Spermatogenese von *Conus* und *Vermetus* tritt dieses Stadium unveränderlich ein, wobei die Kerne der Spermatocyten zweiter Ordnung um diese Zeit durchaus mit den Kernen der jungen Spermatiden übereinstimmen (vgl. die Fig. 21 u. 29 für *Conus*, Fig. 135 u. 143 für *Vermetus*).

Die Spermiogenese.

Bei der Besprechung der Erscheinungen der Spermiogenese bei den von mir untersuchten Formen werde ich hauptsächlich auf folgende Punkte eingehen: 1. die Bildung des Spermatozoenkopfes aus dem Kerne der Spermatide; 2. den Ursprung des Akrosoms (des »Spitzenknopfes«) und denjenigen des »Achsenstabes«.

Was den Kopf betrifft, so wird derselbe bei *Conus* und *Vermetus* im großen ganzen in übereinstimmender Weise gebildet. Der Kern der jungen Spermatide stellt eine homogene Chromatinmasse dar, welche von Vacuolen mit Kernsaft durchsetzt ist (Fig. 27, Fig. 143). Allmählich sammelt sich der Kernsaft im Centrum an, indem er das Chromatin nach

der Peripherie des Kernes verdrängt (Fig. 30, 31; Fig. 145, 146). Es resultiert das Stadium einer hohlen Chromatinkugel. Gleich darauf geht eine allmähliche Konzentration des Chromatins in einer der Hemisphären des Kernes vor sich, welche dem zukünftigen hinteren Pol des Spermatozoenkopfes entspricht (Fig. 33—44; Fig. 146 u. 147), während die andre mit Kernsaft angefüllt ist, welcher die chromatinfreie Kernhülle direkt bespült (Gestalt des »Hängeschlosses«). Diese Hülle beginnt sich in Bälde gleichsam zusammenzuziehen (Fig. 45 u. 46; Fig. 148 u. 149), wobei die Menge des Kernsaftes immer geringer wird. Es entsteht zuletzt ein kompakter Chromatinkern (Fig. 47 u. 48; Fig. 150 u. 151), welcher sich allmählich längs der Längenachse des Spermatozoons ausstreckt und seine definitive Gestalt annimmt (Fig. 49—53; Fig. 152—155).

Die für die Spermiogenese der von mir untersuchten Formen so ungemein charakteristische Gestalt des Spermatidenkernes, welcher in eine hellere vordere und eine dunkle (aus Chromatin bestehende) hintere Hälfte geteilt ist (was im optischen Längsschnitt etwa den Umrissen eines Hängeschlosses entspricht) ist auch bei andern Mollusken häufig beobachtet worden, wobei indessen zu bemerken ist, daß die verschiedenen Autoren den Vorgang des Entstehens dieser Gestalt in verschiedener Weise schildern.

Am besten entspricht dem von mir bei *Conus* und *Vermetus* Beobachteten die Beschreibung von Stephan (1903c), welche sich auf die Bildung des Kopfes bei den typischen Spermien von *Cerithium vulgatum*, auch einem Vertreter der Prosobranchia, bezieht. Ähnlich lautet auch die Schilderung von Platner (1889, *Limax*), wonach auf das bläschenförmige Stadium des Spermatidenkernes eine Verdichtung des Chromatins am hinteren Pole vor sich geht.

Nach Godlewski (1897, *Helix*), Bonnevie (1906, *Enteroxenos*) und Soós (1910, *Helix*) sammelt sich das Chromatin des Kernes, ohne das Stadium einer hohlen Kugel durchzumachen, in der hinteren Kernhälfte an, während die vordere Hälfte mit Kernsaft angefüllt ist.

Prowazek (1901) vermutet, daß bei *Helix* gleichsam ein Ausschwitzen des Kernsaftes aus dem Kern vor sich geht, welcher nunmehr ganz dicht ist und eine herzförmige Gestalt besitzt, wobei die Kernhülle an seiner vorderen Oberfläche von dem Inhalte absteht.

Was die weiteren Verwandlungen des Spermatidenkernes betrifft, so scheinen alle Autoren darin übereinzustimmen, daß der vordere, helle Teil des Chromatins allmählich verschwindet, während die Chromatinmasse der hinteren Hälfte sich in der Richtung der Längsachse des Spermatozoons ausdehnt.

Andre Autoren stellen den Bildungsprozeß des Spermatozoenkopfes in etwas abweichender Weise dar. NUSBAUM (1899, *Helix*) beobachtete die Ansammlung des Kernsaftes nicht nur in dem vorderen, sondern auch in dem hinteren Teile des Kernes. Nachdem das Chromatin sich schließlich zu einer Masse zusammengeballt hat, wird es allseitig von dem Kernsaft umspült (vgl. seine Fig. 2—5).

Bei *Paludina* verläuft die Sache nach den Angaben von MEVES (1902) in folgender Weise. Unmittelbar nach dem Stadium der hohlen, dünnwandigen Chromatinkugel beginnt ein rasches Dickerwerden der Chromatinwand, was zu einer fast vollständigen Verdrängung der centralen, mit Kernsaft angefüllten Höhlung führt, wobei letzterer von dem Chromatin gleichsam aufgesogen wird. Schließlich entsteht der homogene Kopf.

LEE (1904) beobachtete bei *Helix* eine hängeschloßförmige Gestalt des Spermatidenkernes (siehe seine Fig. 78 u. 79), hält dies aber für eine Folge der schlechten Fixierung. Er beschreibt eine Teilung der Kernsubstanz in eine centrale achromatische Masse (Endosoma) und in eine äußere chromatische (Exosoma), so daß das Stadium einer hohlen Chromatinkugel entsteht, wie dies bei *Paludina*, *Conus* und *Vermetus* der Fall ist (siehe auch PLATNER, 1889, für *Limax*). In welcher Weise der Übergang zu der definitiven, homogenen, chromophilen Masse des Spermatozoenkopfes vor sich geht, ist aus der Beschreibung des Autors nicht zu ersehen.

Ich gehe nunmehr zu der Beschreibung eines andern Punktes in der Spermiogenese unsrer Form über, und zwar zu der Bildungsweise des Akrosoms (des Perforatoriums), sowie des Achsenstabes des Kopfes bei *Conus*.

Wir haben gesehen, daß bei *Conus* um die Zeit, wo die Chromatinmasse des Kernes der jungen Spermatide anfängt, sich in Gestalt einer peripheren Schicht anzuordnen, in dem im Centrum angesammelten Kernsaft ein Kernkörperchen auftritt (Fig. 30). Dieses letztere versinkt später in die in der hinteren Hemisphäre angesammelte Chromatinmasse (Fig. 41 u. 42). Wenn der Kopf des Spermatozoons seine definitive Ausbildung erlangt hat, streckt sich auch das Kernkörperchen in die Länge und bildet, indem es sich längs der Achse des Kopfes anordnet, dessen Achsenstab; sein vorderes, frei aus dem Chromatin des Kopfes hervortretendes Ende stellt das Akrosom dar (Fig. 44—53). Es ist sehr wahrscheinlich, daß an der Bildung des Akrosoms auch die Chondriosomen irgendwelchen Anteil nehmen, indem der nicht für den Aufbau des Mittelstückes des Spermatozoons verwendete Teil derselben zweifellos eine

gewisse Zeit hindurch eine innige Verbindung mit dem Vorderende des Achsenstabes eingeht (Fig. 47, 48, 50).

Bei *Vermetus* kann man in seltenen Fällen in dem Kernsafte der Spermatide auch ein kleines Körperchen auf dem Stadium erblicken, wo der Kern eine hohle Chromatinkugel darstellt (Fig. 146). Ich vermute, daß dieses Körperchen dem Kernkörperchen der Spermatide von *Conus* homolog ist. Es hört sehr bald auf sichtbar zu sein und spielt keinerlei Rolle in dem Aufbau des eines Achsenstabes entbehrenden Spermatozoenkopfes (Fig. 155).

Das Akromsom hat hier einen andern Ursprung als bei *Conus*. In dem Cytoplasma der Spermatide tritt ein rundes, siderophiles Körperchen auf, welches um die Zeit des Verschwindens des mit Kernsaft angefüllten Kernteiles an dem vorderen Pole der Chromatinmasse liegt (Fig. 149—151).

Wir wollen uns nunmehr danach umsehen, welche Angaben bezüglich des Vorhandenseins von Nucleolen in dem Spermatidenkerne bei den Mollusken wie auch bezüglich des Schicksals dieser Gebilde in der Literatur zu finden sind.

Kernkörperchen in den Kernen der Spermatiden sind von Prenant (1888), Nusbaum (1899), Godlewski (1897) und Prowazek (1901) bei *Helix*, von Auerbach (1896) und Meves (1902, Taf. II, Fig. 36—38) bei *Paludina* beobachtet worden. Prenant ist der Meinung, daß seine Kernkörperchen spurlos in dem Kerne selbst zugrunde gehen; das gleiche kann man auch auf Grund der Zeichnungen von Meves annehmen. Auerbach vermutet, daß die Nucleolen durch eine Öffnung aus dem Kerne heraustreten und mit dem »Nebenkern« (den Chondriosomen) verschmelzen. Nach der Beschreibung von Godlewski, Nusbaum und Prowazek zu urteilen, läßt der Nucleolus der Spermatide das Akrosom des Spermatozoons aus sich hervorgehen. Die Angaben der drei letztgenannten Autoren stimmen demnach durchaus mit dem überein, was ich bei der Spermiogenese von *Conus* gefunden habe, nur mit dem Unterschiede, daß in meinem Falle nur ein geringer Teil des Nucleolus auf die Bildung des Akrosoms verwendet wird, während aus seiner übrigen Masse der Achsenstab hervorgeht. Der Unterschied in unsern Beobachtungen kann durch das Fehlen eines Achsenstabes in den Spermatozoen von *Helix* leicht erklärt werden.

Eine Reihe weiterer Autoren hat eine andre Vorstellung von der Bildung des Akrosoms. Prenant (1888, *Helix*) neigt zu der Ansicht, daß dasselbe aus der Kernhülle hervorgeht und Kleinert (1909) schließt sich dieser Ansicht an. Lee (1904, *Helix*) vermutet, daß das Akrosom einen Überrest des pseudopodienartigen Chromatinfortsatzes des vorderen

Kernendes darstellt. Platner (1889) leitet das Akrosom bald von dem »Nebenkerne« (*Limax*), bald von einem Centrosom ab (*Paludina*). Meves (1902, *Paludina*) hält das uns beschäftigende Gebilde, hauptsächlich auf Grund der Analogie mit andern Gruppen des Tierreiches, für ein Derivat des Idiozoms. Eines gleichen Ursprunges sind die Akrosomen bei *Enteroxenos* nach der Beschreibung von Bonnevie (1906) und bei *Cerithium* nach den Angaben von Stephan (1903c), welche ich auf Grund eigner Beobachtungen an dieser Form durchaus bestätigen kann.

In den Spermatiden von *Vermetus* ließ sich kein Idiozom in den typischen Spermatiden erkennen, weshalb es schwer fällt zu sagen, ob das in dem Plasma auftretende und die Anlage des Akrosoms darstellende siderophile Kügelchen jenen sphärischen Bildungen entspricht, welche in dem Idiozom von *Enteroxenos* und *Cerithium* enthalten sind. Ebensolche Gebilde sind mehrfach auch bei andern Tiergruppen beobachtet worden, so z. B. bei den Cephalopoda (Thesing, 1904), bei verschiedenen Vertretern der Mammalia (v. Lenhossék, 1898; Meves, 1899), bei *Lithobius* (Tönniges, 1902), bei *Locusta* (Otte, 1907), wobei diese Gebilde, nicht aber das Idiozom selbst, das Akrosom aus sich hervorgehen lassen.

Wir wollen nunmehr jene seltenen Fälle besprechen, in denen die Bildung des Achsenstabes des Kopfes untersucht worden ist.

Nach Broman (1900) entsteht das betreffende Gebilde bei *Bombinator* als ein Auswuchs des »Idiozombläschens«, welches ein Derivat des Idiozoms darstellt. Dieser Verfasser glaubt, daß der Achsenstab »schon von seinem ersten Auftreten an sehr resistent und steif ist und durch sein Längenwachstum den Kern zwingt, sich zum Spermienkopf zu verlängern«.

Nach Tönniges (1902) entsteht der Achsenstab des Spermatozoenkopfes bei *Lithobius* durch Differenzierung der Substanz dieses Kopfes in einen axialen und einen peripheren Teil, wobei ersterer sich verdichtet und zu einem langen dünnen Faden in die Länge zieht.

In andrer Weise beschreibt Thesing (1904) die Bildung des Achsenstabes der Spermatozoen bei den Cephalopoda (*Octopus*, *Scaeurgus*). Nach den Beobachtungen dieses Autors stellt der Achsenstab einen Fortsatz jenes sphärischen Körperchens dar, welches in der Vacuole des Idiozoms entsteht und aus dem das Akrosom hervorgeht.

Auf nachstehende Weise stellt sich Otte (1907) die Entstehung des Achsenstabes (des »Innenkörpers« nach seiner Terminologie) bei *Locusta* vor. Von den Centralkörperchen lösen sich an der dem Kerne zugewandten Seite zwei Körnchen ab, welche eine Zeitlang in der Nähe der

proximalen Centriolen verbleiben, worauf sie sich in das Innere des Kernes begeben. Bisweilen zerfallen sie dabei in eine größere Anzahl von Elementen, von denen gewöhnlich nach beiden proximalen Centralkörperchen gerichtete Fäserchen ausgehen. Die abgespaltenen Körperchen fahren fort, sich dem vorderen Ende des Kernes zu nähern. An dieser Stelle bildet sich allmählich eine Verdichtung, und es entsteht ein Gebilde von regelmäßiger Gestalt. Von dem vorderen Pole des Kopfes geht ein angeschwollener Stab aus, welcher in dessen Achse liegt und sich in einiger Entfernung in zwei Fäden teilt, die nach den proximalen Centriolen gerichtet sind, ohne dieselben indessen zu erreichen. In diesem Falle besteht der Achsenstab nur zeitweilig und fehlt bei dem fertigen Spermatozoon.

Wenn wir die Summe von allem ziehen, was uns über die Entstehung des Akrosoms und des Achsenstabes bekannt ist, so erhalten wir den Eindruck, als könnten die genannten Gebilde einen ganz verschiedenen Ursprung haben. Leider ist die Zahl der Fälle, wo die Entwicklung dieser Organellen mit genügender Genauigkeit und Ausführlichkeit untersucht worden ist, so gering, daß es verfrüht erscheint, auf Grund des zu unsrer Verfügung stehenden Materiales irgendwelche definitiven Schlüsse zu ziehen.

Der Achsenstab ist ein augenscheinlich recht weit verbreitetes Gebilde. Außer den schon angeführten Fällen sind vor allem noch die Vertreter der Coleoptera (*Morimus* u. a. m.) anzuführen, bei denen Ballowitz (1890) in dem Kopfe des Spermatozoons einen Achsenstab unter der Bezeichnung »centraler Innenkörper« beschreibt. Ferner findet sich ein Achsenstab, wie dies aus der Beschreibung von Retzius (1906) hervorgeht, unter den Mollusca bei *Purpura*, *Rissoa*, *Neritina*, *Velutina*, *Fusus*, *Buccinum*; unter den Bryozoa bei *Triticella*; endlich unter den Amphibia bei *Alytes*.

Was die physiologische Bedeutung des Achsenstabes betrifft, so vermutet Thesing, daß derselbe nebst dem Achsenfaden ein mechanisches oder nervöses Element für die Übertragung oder Leitung der Bewegung von den Centralkörperchen — dem kinetischen Centrum — nach beiden Enden des Spermatozoons darstellt. Ich meinerseits bin der Ansicht, daß wir es hier mit einem ebensolchen stützenden Elemente für den Kopf zu tun haben, wie es der Achsenfaden für den Schwanz darstellt. In der Tat erscheint der Kopf in allen den Fällen, wo ein wohl entwickelter Achsenstab vorliegt, stark in die Länge ausgezogen und fadenförmig. Bei *Locusta*, wo der Achsenstab, wie wir gesehen haben, ein vergängliches Gebilde darstellt, kann diese Erscheinung auf zweierlei Weise erklärt

werden: entweder haben wir es hier mit einer rudimentären Organelle zu tun, oder aber die Konsistenz der Substanz des Kopfes unterliegt bei ihrer fortschreitenden Entwicklung einer Veränderung, und der Achsenstab wird überflüssig.

Die Entwicklung der atypischen Spermatozoen.

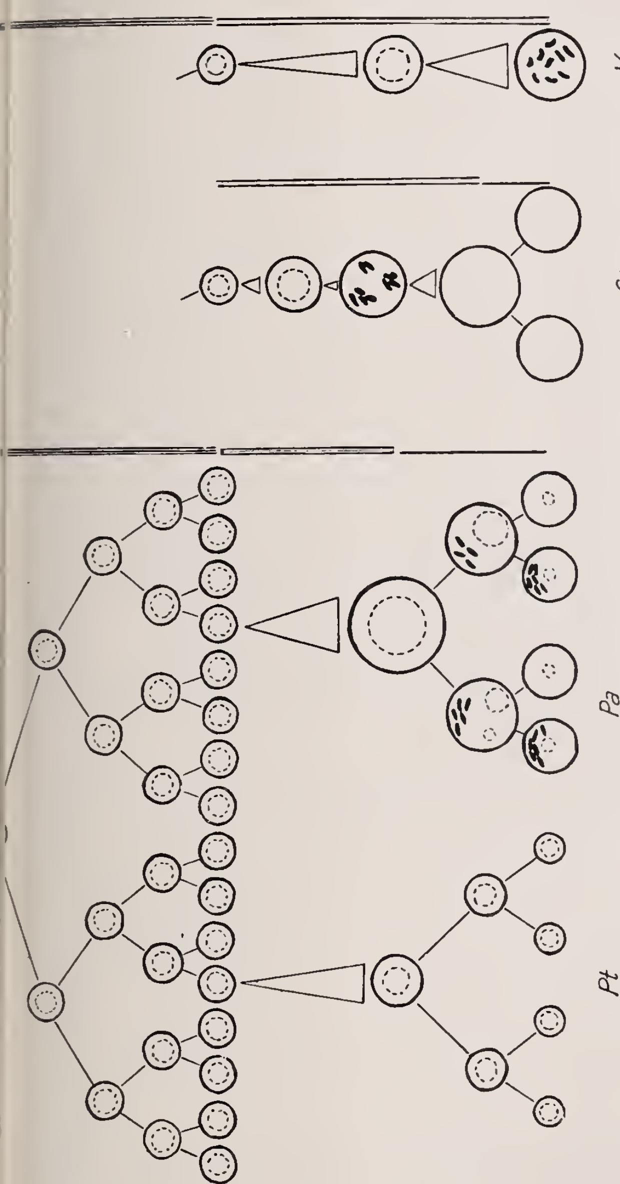
Die Untersuchungen von Meves an *Paludina* und von Stephan und Lams an *Murex* haben ergeben, daß die atypischen Geschlechtselemente sich bei diesen Vertretern der Mollusca, bevor sie sich in die fertigen Samenkörper verwandeln, zweimal teilen, gerade wie dies auch bei Elementen der typischen Reihe der Fall ist. Ein Unterschied besteht indessen darin, daß bei *Paludina* die Größe der Spermatocyten erster Ordnung in dem ersteren Falle eine viel beträchtlichere ist, daß in der mitotischen Figur der ersten Reifungsteilung eine nicht reduzierte Anzahl von Chromosomen vorhanden ist, und daß nach der ersten und zweiten Teilung ein beträchtlicher Teil dieser letzteren eliminiert wird, so daß nur ein einziges Chromosom in den Bestand des Spermatozoenkopfes aufgenommen wird.

Anders verhält es sich bei den von mir untersuchten Vertretern der Prosobranchia. Bei *Conus* erleidet die Spermatocyte nur eine einzige Teilung, nach welcher die Prozesse der Spermiogenese ihren Anfang nehmen. Die Eliminierung des Chromatins geht viel rascher vor sich, als bei *Paludina* und *Murex*, so daß noch vor dem Beginn der Reifungsteilung in den Spermatocyten keine Spur von Chromatin mehr enthalten ist.

Wir haben oben gesehen, daß in den Spermatocyten von *Conus* in gewissen Fällen die Bildung von Chromosomengruppen beobachtet wird. Ich deute diese Erscheinung als einen Versuch zur mitotischen Teilung. Wenn man annimmt, daß dieser Moment der ausgefallenen ersten Reifungsteilung entspricht, so wird man die erhalten gebliebene Teilung der schon kernlosen Spermatocyten für die zweite Teilung ansehen müssen.

Bei *Vermetus* stellt sich die Entwicklung der atypischen Samenkörper in noch vereinfachterer Weise dar. Die Spermatocyten erster Ordnung verwandeln sich unmittelbar in die Spermatozoen, ohne eine Teilung durchzumachen. Dagegen bleibt das Chromatin länger erhalten, als bei *Conus*: Chromatinelemente sind in beträchtlicher Anzahl noch fast bis zur Beendigung der Spermiogenese vorhanden. Dies läßt sich wahrscheinlich durch den Umstand erklären, daß das Chromatin bei *Vermetus* an der Bildung der Eiweißablagerungen in dem Protoplasma der Samenkörper Anteil nimmt.

Am besten läßt sich der Unterschied in der Spermatogenese bei *Paludina* (oder *Murex*), *Conus* und *Vermetus* aus dem Schema (Textfig. 6) erkennen.



P. t. — *Paludina*, typische Reihe; *P. a.* — *Paludina*, atypische Reihe; *C. a.* — *Conus*, atypische Reihe; *V. a.* — *Vermetus*, atypische Reihe. Für *Conus* und *Vermetus* sind die Beziehungen in der typischen Reihe in dem Schema nicht angegeben: sie stimmen durchaus mit dem, was wir bei *Paludina* gesehen haben, überein. In der atypischen Reihe bei *Conus* ist die Wachstumsperiode entsprechend der komplizierteren, ursprünglichen Entwicklungsweise *a* angegeben. Die Periode der Vermehrung ist durch drei, die Periode des Wachstums durch zwei und die Periode der Reifung durch einen Vertikalstrich bezeichnet. Das von Meves (1902) für *Paludina* aufgestellte Schema ist meinerseits etwas vervollständigt worden; ich habe mich bemüht, auf diesem Schema auch die von dem Kerne durchgemachten Veränderungen zum Ausdruck zu bringen. Die inneren Kreise mit gestrichelter Kontur entsprechen den bläschenförmigen Kernen, die einzelnen dunkeln Elemente den frei im Cytoplasma liegenden Chromosomen. Die Zahl dieser letzteren auf dem Schema, wie auch die relativen Dimensionen der Zellen und Kerne in den verschiedenen Generationen entsprechen der Wirklichkeit nicht ganz genau: es lag in meiner Absicht, die vor sich gehenden Prozesse nur von ihrer qualitativen Seite aus zu beleuchten. Das gleiche bezieht sich auch auf *C. a.* und *V. a.*

Durch das Studium dieses Schemas gelangen wir zu der Überzeugung, daß bei *Conus*, und in noch höherem Maße ist dies bei *Vermetus*

der Fall, die Wachstumsperiode der männlichen Geschlechtselemente der atypischen Reihe auf Kosten der Reifungsperiode in die Länge gezogen wird.

Die Rudimentierung der Reifungsteilung, wie sie so häufig während der Oogenese stattfindet (namentlich bei Eiern mit parthenogenetischer Entwicklung), ist für die Spermatogenese bis jetzt nur bei den Hymenoptera beschrieben worden. Bei allen genauer untersuchten Vertretern dieser Gruppe wird bei der ersten Reifeteilung nur eine kleine Plasmaknospe abgetrennt, die keine Chromatinelemente enthält. Es bildet sich dabei bei *Apis mellifica* (Meves, 1907), *Vespa maculata* (Mark u. Copeland, 1907) und *Xylocopa violacea* (Granata, 1909) noch eine Spindel, bei *Vespa crabro* (Meves u. Duesberg, 1908) tritt nur eine Halbspindel auf, und bei *Camponotus herculeanus* (Lams, 1908) sind gewöhnlich schon keine Spuren einer achromatischen mitotischen Figur mehr wahrzunehmen.

Wir haben gesehen, daß bei *Conus* die stützenden Elemente der atypischen Samenkörper aus den Mitochondrien entstehen[1]), während diese Elemente bei *Vermetus* durch die Centriolen gebildet werden, wie dies auch bei *Murex* der Fall ist (Stephan, 1903a; Lams, 1910). In den typischen Samenkörpern, aus denen die atypischen hervorgegangen sind, sehen wir die Stützelemente durch Derivate der Mitochondrien (namentlich z. B. der »Spiralfaden« des Mittelstückes, wo ein solcher vorhanden ist) wie auch der Centriolen (Achsenfaden) dargestellt, wie dies von Koltzoff (1906) nachgewiesen worden ist. Bei *Paludina* ist der Stützapparat auch in den atypischen Spermatozoen von zweierlei Herkunft (Meves, 1900; Perroncito, 1910).

Man wird sich leicht vorstellen können, daß bei weiterer Abweichung der atypischen Spermatozoen von der Urform in den einen Fällen die Stützelemente der ersteren Art eine vorwiegende Bedeutung erhalten haben, während die Skeletelemente der zweiten Art atrophieren; in andern Fällen tritt das umgekehrte Verhalten ein.

Die morphologische Orientierung der erwachsenen atypischen Samenkörper bei *Conus* bietet keine Schwierigkeit u. zw. dank dem Vorhandensein von Centriolen und zwei freien Fäden, welche das hintere Ende des Körpers charakterisieren. Anders verhält es sich mit den Samenkörpern von

---

[1]) Die zwei unbeweglichen Fäden des atypischen Spermatozoons von *Conus* scheinen rudimentäre funktionslose Gebilde zu sein, gleich dem kleinen »Achsenfaden«, der in den Samenkörpern von *Ascaris* gelegentlich auftritt (Scheben, 1905; Mayer 1908; Romieu, 1911). Hierher gehören höchstwahrscheinlich auch die »Centralgeißeln« von Zimmermann (1898), die in den Epithelialelementen vorkommen und als phylogenetische Reminiszenzen aufzufassen sind (Gross, 1906).

Vermetus. Im Beginne der Bildung der Stützfäserchen kann man das Hinterende der Spermatide an dem Orte erkennen, wo sich die Centriolen befinden. Bei dem reifen Spermatozoon dagegen werden die äußeren Unterscheidungsmerkmale zwischen dem vorderen und dem hinteren Ende augenscheinlich ganz verwischt.

Die atypischen Spermatozoen gehören sowohl bei *Conus*, wie auch bei *Vermetus* zu den apyrenen. Dies ist auch bei einer Reihe andrer Prosobranchia der Fall (*Murex* nach STEPHAN, 1903 a; *Aporrhais* nach mir, 1910), wie auch bei *Pygaera* (nach MEVES, 1902).

Wir haben gesehen, daß die bereits jeder Spur eines Kernes entbehrenden atypischen Spermatozoen immer noch die Fähigkeit besitzen, eine Teilung durchzumachen, wobei dieser Vorgang insofern den Stempel der Gesetzmäßigkeit an sich trägt, als zu ein und derselben Gruppe gehörende Elemente sich synchronisch teilen, und beiderlei Teilungsprodukte einander ganz gleich sind.

Ich habe nur einen einzigen Hinweis auf die Teilung kernloser Zellen in der Literatur finden können, und zwar beobachtete ZIEGLER (1898) einen Fall, wo bei der ersten Furchungsteilung des befruchteten Eies von *Echinus microtuberculatus* die gesamte Kernmasse beider Geschlechtskerne in eines der Blastomere geraten war. Ungeachtet dessen fuhren beide Zellen fort sich zu teilen, wobei indessen während der Teilungen des kernlosen Blastomers und seiner Derivate gewisse Unregelmäßigkeiten zu bemerken waren. Wie dem nun auch sein mag, so ist ZIEGLER doch zu dem Schlusse gelangt, daß kernlose Zellen sich teilen können, und daß demnach das Vorhandensein von Chromatin bei dem Prozesse der Zellteilung nicht unbedingt notwendig ist[1]).

GURWITSCH (1904) ist andrer Ansicht. Gestützt auf die Beobachtungen von HERTWIG, BOVERI u. a. über Fälle von Kernteilung ohne Furchung der Zelle (mit Äther behandelte Echinodermeneier), mit nachfolgendem simultanem Zerfall des Eies in Zellen entsprechend der Anzahl der Kerne, zieht unser Autor die Folgerung, »daß der Kern zu den notwendigen Vorbedingungen der Zellteilung gehört«. Durch meine eignen Beobachtungen über die Teilung der kernlosen Spermatocyten von *Conus* wird der Gesichtspunkt von ZIEGLER durchaus bestätigt.

BOVERI (1897) erklärte das Vorhandensein einer Spindel als eine notwendige Bedingung für die Zellteilung. Die Beobachtungen von ZIEGLER über die Furchung des kernlosen Blastomers von *Echinus* haben diese Auffassung nicht bestätigt. Ich muß mich auch in dieser Beziehung

---

[1]) Hier und weiter unten Sperrdruck von mir, wenn es nicht anders angegeben ist.

der Ansicht Zieglers anschließen, da es mir bei der Teilung der Spermatocyten von *Conus* nicht gelungen ist, irgendwelche Anzeichen einer achromatischen Spindel zu entdecken. Auch Lams (1908) hat bei der Abtrennung der kernlosen Knospe der ersten Reifungsteilung in der Spermatogenese von *Camponotus* nur in seltenen Fällen Spuren einer Spindel, in Gestalt einzelner Fäserchen beobachten können.

Schenk (1899), welcher alle bis dahin auf Grund von Beobachtungen über auf operativem Wege erlangte, lebende, kernlose Protoplasmabezirke erzielten Resultate zusammengestellt hat, kommt zu nachstehendem Schlusse: »Wachstum, Regeneration, Formbildung, kurz alle die physiologischen Vorgänge, die wir als Organisationsvorgänge bezeichnen können, sind an das physiologische Zusammenwirken von Kern und Protoplasma gebunden.« Auf einem ähnlichen Standpunkte steht auch Heidenhain (1907). Indem er die von Meves beschriebenen apyrenen Spermatozoen verschiedener Spinner (*Pygaera* u. a. m.) als Beispiel anführt, sagt unser Autor: »Wenn Zellen dieser Art überhaupt existenzfähig sind, so schreiben wir dies dem Umstande zu, daß die Organisation der Spermie fest gegeben ist, ein weiteres Wachstum also nicht in Betracht kommt. Eine solche Zelle mag Nährmaterial aus der Umgebung aufnehmen und mag einer dauernden Beweglichkeit sich erfreuen, im übrigen ist sie keiner weiteren Wandlung fähig.«

Obgleich die junge atypische Spermatide von *Conus* merklich kleiner ist, als der fertige Samenkörper, ist es doch schwer, mit Sicherheit zu behaupten, daß während der Spermiogenese ein wirkliches Wachstum des Zellkörpers stattfindet, wenn man sich an die Definition von Wiesner (1902) hält, wonach ein solches Wachstum stets mit einer Vermehrung der Anzahl kleinster lebender Teilchen verbunden ist. Es ist in der Tat möglich, daß die Erscheinung auf ein Aufquellen der Zelle infolge Aufnahme von Flüssigkeit aus dem umgebenden Medium zurückgeführt werden kann. Was nun die gestaltbildenden oder organisatorischen Prozesse anbetrifft, so sind solche in unserm Falle zweifellos vorhanden, ungeachtet des vollständigen Fehlens eines Zellkernes. Ich habe hier die Bildung der für das fertige Spermatozoon charakteristischen Vacuole, der Geißeln und der Stützelemente im Auge. Wenn wir nun auch die Bildung der Vacuole als eine im höchsten Grade primitive Erscheinung ansehen müssen, welche von der Zelle keinerlei aufbauende Prozesse fordert, so werden wir von der Bildung der Geißeln unter Teilnahme der Centriolen, wie auch von derjenigen der peripheren Fäserchen unter Teilnahme der Chondriosomen doch nicht das gleiche aussagen können.

Auf Grund der von mir angeführten Beobachtungen wird man, wie mir scheint, den Schluß ziehen können, daß die formative Tätigkeit der Centriolen und Mitochondrien in beträchtlichem Grade unabhängig von dem Kerne ist.

Was die Centriolen betrifft, so wird dieser Satz auch durch die oben angeführten Beobachtungen von ZIEGLER (1898) bestätigt. Bei weiteren Teilungen des kernlosen Blastomers im Ei von *Echinus* entstanden achromatische Spindeln, welche ebenfalls ein Produkt der Tätigkeit der Centriolen darstellten.

Die Chondriosomen.

Wir haben gesehen, daß man die Chondriosomen bei *Conus* in Gestalt einzelner Körperchen schon auf dem Stadium der jungen birnförmigen Spermatocyte erster Ordnung bemerken kann. Von diesem Augenblicke an bis zu der Bildung des fertigen Samenkörpers, und zwar sowohl des eupyrenen wie auch des apyrenen, sind sie in dem Cytoplasma der männlichen Geschlechtszellen beständig vorhanden. In den eupyrenen Spermatozoen wird aus den Chondriosomen die Hauptmasse des Mittelstückes gebildet, in den apyrenen dagegen entsteht aus ihnen das System der fadenförmigen, an der Oberfläche der Zelle angeordneten Stützelemente.

Wie ich dies an seiner Stelle beschrieben habe, treten die Chondriosomen auf einem bestimmten Stadium in der Entwicklung der Spermatide offenbar in innige Verbindung mit dem Kernkörperchen (Fig. 32), was besonders in dem Momente deutlich zutage tritt, wo das Hinwegrücken der ersteren wie auch des letzteren von der Kernhülle beginnt. Es ist dann ein ununterbrochener Faden zu sehen, welcher durch die Kernhülle hindurch von dem etwas in die Länge gestreckten Kernkörperchen nach dem Chondriosomenhäufchen verläuft (Fig. 33). Unwillkürlich gelangt man zu dem Schlusse, daß in dem von uns beschriebenen Momente der Spermiogenese irgendeine gegenseitige Einwirkung zwischen dem Kernkörperchen und den Chondriosomen vor sich geht.

Wenn bis jetzt auch keine andern analogen Erscheinungen während der Spermiogenese bekannt geworden sind, so ist doch etwas Ähnliches in den Auxocyten bei einigen Orthopteren beschrieben worden. So hat WASSILIEFF (1907) bei *Blatta germanica* beobachtet, daß die beiden in den Spermatocyten enthaltenen Kernkörperchen noch vor Beginn der zur Bildung des »Buketts« führenden Orientierung der Chromatinelemente lange Fortsätze aussenden, welche nach der Stelle der Kernhülle gerichtet sind, in deren Nähe die Mitochondrienansammlung in dem Plasma liegt. Dabei verschwindet das kleinere Kernkörperchen in Bälde ganz, während das

größere mit seinem Fortsatz auch noch auf dem Stadium des Buketts figuriert, nach welchem es seinen Fortsatz verliert (vgl. bei Wassilieff Fig. 24—32).

Unser Autor deutet diese Bilder als den Ausdruck eines Ausfließens des Chromatins aus dem Kernkörperchen in das Protoplasma, wobei dasselbe sich in die Substanz der Mitochondrien verwandelt. Genau ebensolche Erscheinungen beschreibt auch Buchner (1909) in den Spermatocyten von *Oedipoda*, *Decticus*, *Locusta*, wie auch in den Oocyten von *Gryllus campestris* (siehe seine Fig. 20—30, 54, 87, 89—91, 120—129). Dieser Autor schließt sich den Auslegungen von Wassilieff voll und ganz an.

Die Beobachtungen und Kommentare, welche Buchner und Wassilieff bezüglich dieser Frage mitgeteilt haben, sind schon mehrfach einer mißbilligenden Kritik unterworfen worden; in besonders scharfem Maße ist dies von Seiten Duesbergs (1910) der Fall gewesen. Nachdem er die Untersuchungen von Wassilieff an *Blatta* mit Hilfe der Bendaschen Methode nachgeprüft hatte, gelangt dieser Autor unter andern zu nachstehenden Schlußfolgerungen: «l'allongement des nucléoles pendant une phase déterminée de la période d'accroissement, n'est pas l'expression objective d'un ‚Abströmungsprozeß', mais le résultat de l'orientation de toute la substance nucléaire figurée vers un pôle du noyau . . . A aucun moment de la période d'accroissement, on n'observe de relation entre les chondriosomes et le contenu du noyau[1]).

Nach allem dem, was wir in bezug auf die Chondriosomen als beständigen Bildungen des Plasmas kennen gelernt haben, fällt es sehr schwer, an ein Ausströmen des Chromatins aus dem Kerne und an seine Verwandlung in die Substanz der Mitochondrien zu glauben. Und doch bringen die von Wassilieff und Buchner, wie auch die von Duesberg selbst (siehe dessen Fig. 22) mitgeteilten Bilder unwillkürlich auf den Gedanken an irgendwelche Beziehungen, welche auf einem entsprechenden Stadium zwischen dem Kernkörperchen und den Mitochondrien bestehen. Allerdings ist in dem gegebenen Falle auch noch eine andere Annahme zulässig. Buchner (1910) hat darauf hingewiesen, daß das Centriol sowohl auf die Chondriosomen, wie auch auf die geformten Elemente des Kernes eine deutlich ausgesprochene anziehende Wirkung ausüben kann. Die Annäherung des Kernkörperchenfortsatzes und der Chondriosomen an einem der Kernpole läßt sich vielleicht durch die wahrscheinliche

[1]) Sperrdruck im Original.

Anwesenheit eines Centriols an dieser Stelle erklären und trägt demnach einen rein zufälligen Charakter.

Für die gleiche Erscheinung in den Spermatiden von *Conus* dürfte eine solche Voraussetzung wohl kaum begründet sein. Allerdings befindet sich das Centriol, wie ich dies an seiner Stelle nachgewiesen hatte, auch in diesem Falle an demjenigen Kernpole, wo die Chondriosomen mit dem Kernkörperchen zusammentreffen. Allein die fadenförmige Brücke, welche nach bereits erfolgtem Auseinandertreten dieser Elemente zwischen den Chondriosomen und dem Kernkörperchen ausgespannt ist, beweist, daß zwischen ihnen eine innige Verbindung stattgefunden hatte. In unserm Falle erweist sich die oben angeführte Schlußfolgerung von Duesberg als nicht passend.

Es wäre verfrüht, wenn wir die von mir beobachteten Tatsachen schon jetzt verallgemeinern wollten. Zukünftige Untersuchungen werden ergeben, ob wir es hier mit einer vereinzelt dastehenden Erscheinung zu tun haben, oder aber ob im Leben einer jeden Zelle Augenblicke eintreten, wo eine zeitweilige gegenseitige Einwirkung zwischen den Chondriosomen und den geformten Kernelementen stattfindet. Die Untersuchungen von Wassilieff und Buchner verdienen es unbedingt, in dieser Hinsicht von neuem nachgeprüft zu werden.

Bekanntlich färbt sich der Spiralfaden der typischen Spermatozoen, in seiner Eigenschaft als zweifelloses Stützelement, nach Benda genau in der gleichen Weise wie die Mitochondrien, aus denen er hervorgegangen ist. Dagegen verlieren die Chondriosomen der apyrenen Samenkörper bei *Conus*, indem sie die Gestalt von glatten Fäden (Stützfäserchen) annehmen, die Eigenschaft, sich nach Benda färben zu lassen. Dafür werden die fertigen Stützfäserchen von Eisenhämatoxylin gefärbt. Ein analoges Beispiel von der Änderung der Eigenschaften der Chondriosomen in bezug auf Färbemittel bei ihrer Umwandlung in Stützelemente finden wir bei Meves (1910). In den Bindegewebszellen des Hühnerembryos werden die Chondriosomen, welche sich bis dahin nach M. Heidenhain gut färben ließen, nachdem sie sich in junge Stützfäserchen verwandelt haben, bei der Bearbeitung der Präparate mit Eisenalaun leicht entfärbt, so daß man, um sie zu färben, Fuchsin S verwenden muß.

Bei *Vermetus*, wo ich mich bei dem Studium der Chondriosomen mit Präparaten begnügen mußte, welche mit Eisenhämatoxylin gefärbt waren, ist es mir nicht gelungen, diese Gebilde in Gestalt einzelner Körner in den ruhenden Spermatogonien und in jungen Spermatocyten nachzuweisen.

In den sich teilenden Spermatogonien treten ringförmige Chondriosomen auf, deren Bildungsmodus ich nicht feststellen konnte. Die Chon-

driosomen erscheinen in dieser Gestalt auch in den Spermatocyten der typischen Reihe während der Wachstums- und Reifungsperiode. In den Spermatiden vereinigen sie sich zu vier verhältnismäßig großen Körperchen, welche die Hauptmasse des Mittelstückes des Spermatozoons ausmachen. Es ist mir nicht gelungen, die Chondriosomen in den atypischen Spermatocyten von *Vermetus* zu entdecken.

Der sogenannte »Nebenkern« der Pulmonaten und seine Homologa[1].

Schon Keferstein (1862—66) scheint das Gebilde in den Spermatiden der Pulmonaten beobachtet zu haben, welches später die Bezeichnung »Nebenkern« bekommen hat. Nach Duval (1879) sollte der Spermiumkopf sich daraus bilden. Nussbaum (1884) hat die Unrichtigkeit dieser Anschauung gezeigt. Platner (1885, 1886, 1886a) und Prenant (1888) beschreiben den »Nebenkern« der Spermatocyten und Spermatiden bei den Pulmonaten als einen unregelmäßigen eckigen Körper, der aus einzelnen Stäbchen besteht. Zuerst (1886) leitete Platner das Gebilde vom Kerne ab, nachher (1886a) vom äquatorialen Teil der achromatischen Spindel. Nach Prenant entsteht der »Nebenkern« durch Vereinigung von vielen »rudimentären Nebenkernen«, die im Plasma zerstreut waren. Sie werden von ihm als Verdickungen der linearen gewundenen Elemente aufgefaßt, aus welchen das Cytoplasma besteht.

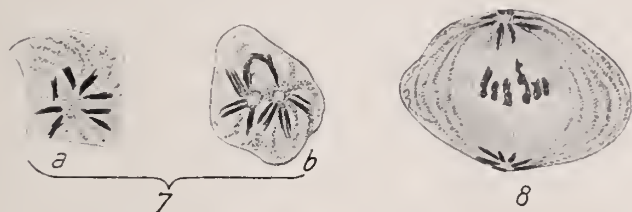
In seiner späteren Arbeit schildert Platner (1889) den »Nebenkern« folgendermaßen. In den ruhenden Spermatocyten besteht dieser aus dicken Fäden, welche um den Punkt herum orientiert sind, wo das Centrosom sich befindet. Bei den Reifeteilungen zerfällt der »Nebenkern« in eine bestimmte Anzahl von Stäbchen (acht für *Limax agrestis*, sechs für *Helix pomatia*). Diese spalten sich der Länge nach und bilden zwei radiäre Gruppen um die beiden Tochtercentrosomen, die allmählich auseinanderweichen (Textfig. 7). Dabei ist zwischen den beiden Gruppen ein dunklerer Verbindungsstrang zu sehen, der ebenfalls aus dem »Nebenkern« entsteht und der Spindel den Ursprung gibt. An den Polen der achromatischen Figur sind die Centrosomen, die Cytoplasmastrahlen und die Gruppen von radiär gerichteten Stäbchen (acht in jeder Gruppe bei *Limax*) zu sehen, die unser Verfasser »Hauptstrahlen« nennt (Textfig. 8). Ihre Zahl soll der Hälfte der Chromosomenzahl entsprechen.

[1]) Als mein Manuskript schon ganz fertig vorlag, habe ich, dank der Liebenswürdigkeit der Autoren, die Arbeiten von Weigl (1912) und Berenberg-Gossler (1912a) kennen gelernt, welche viele Berührungspunkte mit den Hauptergebnissen dieses Kapitels aufweisen. Es war mir leider unmöglich, diese Arbeiten hier zu berücksichtigen, ohne beträchtliche Zusätze und eine Umordnung des Stoffes vorzunehmen.

Nach beendeter Zellteilung wird der »Nebenkern« von dem polaren Teil der Spindel wiederhergestellt.

HERMANN (1891) bestätigt die Meinung von PLATNER betreffs der konstanten Zahl der stäbchenförmigen Elemente des »Nebenkerns« (zwölf für *Helix pomatia*). Dieser Autor nennt sie »Archoplasmaschleifen«.

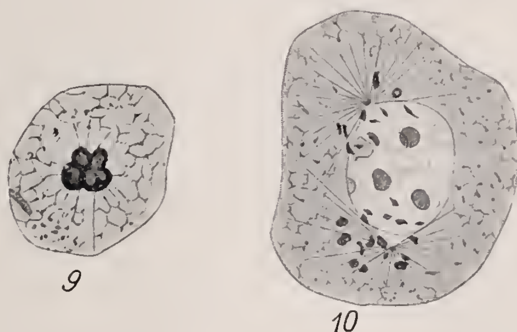
Textfig. 7 u. 8.



Nach ZIMMERMANN (*Helix*, 1891) stellt der ruhende »Nebenkern« einen eckigen, gefalteten Körper dar, der sich genau so, wie das Plasma färbt. Mehrere dunklere Linien sind in ihm zu beobachten. Er wird zu den Strahlungen der achromatischen Figur.

LEE (1896) hält den »Nebenkern« der Spermatocyten von *Helix* für einen Abkömmling des polaren Teiles der Teilungsspindel. Er beschreibt

Textfig. 9 u. 10.



diesen als eine Gruppe von etwa 20 stäbchenförmigen Elementen, die um ein gewisses Centrum radiär liegen und in eine hyaline Grundsubstanz eingebettet sind. Das Gebilde geht zugrunde und nimmt an der nächsten Mitose keinen Anteil. Unser Verfasser stellt die Anwesenheit von Centriolen in Abrede.

Murray (1898) beschreibt den »Nebenkern« der Spermatocyten von *Helix* und *Arion* als einen unregelmäßigen Körper. Seine äußere Schicht ist verdichtet und gefaltet, im optischen Querschnitt erscheint sie in Form von kleinen Strängen, welche den »stäbchenförmigen Elementen« der früheren Autoren entsprechen sollen. Beim Beginn der Teilung erscheinen im »Nebenkerne« zwei Centriolen (Textfig. 9). Der »Nebenkern« wird fragmentiert, seine Bruchstücke umgeben die beiden Centriolen, die sich an den Polen der Teilungsspindel befinden (Textfig. 10). Nach der Zellteilung wird der »Nebenkern« wieder aus den Fragmenten gebildet. Unser Verfasser scheint den »Nebenkern« der Pulmonaten dem »Archoplasma« bzw. der »Sphäre« in andern Fällen gleich zu stellen.

Meves (1899) konnte Centralkörper im »Nebenkern« der Spermatogonien und Spermatocyten von *Helix* nachweisen. Er identifiziert den »Nebenkern« mit dem Idiozom. Aus der v. Korffschen (1899) Beschreibung der Spermiogenese bei *Helix* ist zu entnehmen, daß dieser Verfasser denselben Standpunkt wie Meves vertritt.

Prowazek (1901), welcher in den Spermatogonien von *Helix* ein Gebilde beschreibt, das dem »Nebenkerne« der früheren Autoren zweifellos entspricht, hält dieses für ein Idiozom, welches von stäbchenförmigen Elementen umgeben ist. Seiner Meinung nach gehen diese letzteren während der Metaphase gewöhnlich zugrunde.

Ancel (1903, *Helix*) glaubt, daß die Nebenkernelemente aus kleinen Fäden entstehen, die im Plasma zerstreut sind (vgl. Prenant). Der »Nebenkern« enthält keine Centriolen und verschwindet vor Beginn der Mitose.

Tschassownikow (1905) stellt sich den »Nebenkern« der Spermatocyten von *Helix* »als eine kleinkörnige, beinahe homogene Masse mit verdickter und höchst sonderbar gekrümmter Peripherie vor, deren gebogene Ränder Stäbchen simulieren können«. Im »Nebenkern« ist ein Centriolenpaar zu entdecken. Während der Prophase der ersten Reifeteilung geht das Gebilde verloren.

Popoff (1907, *Helix*) beschreibt den »Nebenkern« der Spermatocyten und Spermatiden als eine Anhäufung von dicken Fäden. Auf Grund seiner Abbildungen (Taf. VIII, Fig. 94—98) ist zu schließen, daß er auch die Grundsubstanz gesehen hat, welche diese Fäden zusammenhält. Von der Anwesenheit von Centriolen im »Nebenkern« ist bei Popoff keine Rede. Seiner Meinung nach entstehen die dicken Fäden des »Nebenkernes« aus dünneren, welche im Cytoplasma zerstreut sind und vom Kerne stammen. Beiderlei Bildungen faßt er als Chromidien auf.

Kleinert (1909, *Helix*) findet ein »Centrosom« [Centriol] im »Nebenkerne«, den er für ein Idiozom hält.

Soós (1910) scheint betreffs der Entstehung der stäbchenförmigen Elemente des »Nebenkernes« sich den Anschauungen von Popoff anzuschließen.

Indem wir alles, was über den »Nebenkern« der Pulmonaten gesagt wurde, zusammenstellen, dürfen wir folgendes behaupten. Der »Nebenkern« stellt ein zusammengesetztes Gebilde dar, und zwar besteht er aus einem bzw. zwei Centralkörperchen (Murray, Meves, v. Korff, Tschassownikow, Kleinert), aus einer hyalinen Substanz, die vom übrigen Plasma verschieden erscheint (Lee, Murray, v. Korff, Prowazek, Tschassownikow, Popoff, Kleinert) und aus einer Anzahl von stäbchenförmigen Elementen, die an der Peripherie dieser Masse liegen (fast alle angeführten Autoren). Das Centralkörperchen ist ein Centriol, was aus seinem Anteil an der Mitose in den Spermatocyten (Murray, Tschassownikow), sowie an der Bildung des Achsenfadens in den Spermatiden (v. Korff) mit Sicherheit hervorgeht. Dabei bekommt die »hyaline Substanz«, welche dieses Körperchen umhüllt, die Bedeutung eines Idiozoms (vgl. v. Korff, Prowazek, Korschelt u. Heider, Kleinert). Was die peripher liegenden stäbchenförmigen Elemente betrifft, so werde ich sie im folgenden näher besprechen. Die Untersuchungen von Platner (1889) und Murray (1898) beweisen, daß diese Elemente auch während der Mitose als zwei radiäre Gruppen an den beiden Polen der achromatischen Figur erhalten bleiben können.

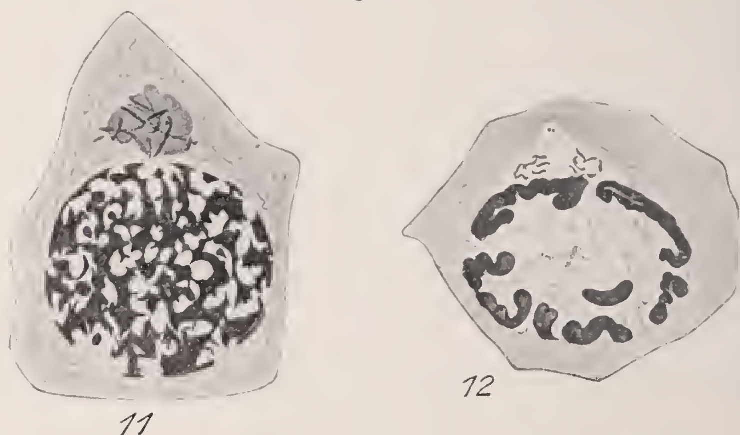
Wollen wir uns jetzt zu den Gebilden wenden, die eine äußerliche Ähnlichkeit mit dem »Nebenkerne« der Pulmonaten aufweisen.

Hermann (1891) fand, als er die Struktur des »Archoplasmas« der Spermatocyten von *Proteus* untersuchte, in demselben ein Centrosom [Centriol], von kurzen Schleifen (»Archoplasmaschleifen«) umgeben, die er für identisch mit den stäbchenförmigen Elementen des »Nebenkernes« der Pulmonaten hielt. Ähnliche fadenförmige Gebilde konnte Meves (1896) im Idiozom bei *Salamandra* beobachten (Textfig. 11). Hermann (1897) glaubt in diesen Fällen permanente Elemente vor sich zu haben. In der Prophase hat er eine dicentrische Anordnung derselben gesehen (Textfig. 12).

M. Heidenhain (1900) untersuchte die in Rede stehenden Gebilde eingehend in den Spermatocyten von *Proteus*. Er fand bald eine durchlöcherte Kapsel, bald eine Anzahl von »Pseudochromosomen« um das Idiozom herum, welches ein Centriol enthielt (Textfig. 13). Neuerdings

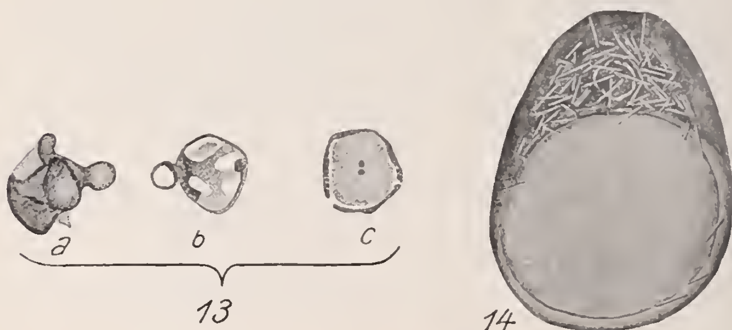
hat Terni (1912) zweifellos denselben Komplex in den Spermatocyten erster Ordnung von *Geotriton fuscus* auch bei Untersuchung des frischen Gewebes wiedergefunden (Textfig. 14).

Textfig. 11 u. 12.



Ballowitz beschrieb in den Zellen der Descemetschen Membran des Säugetierauges ein Gebilde, welches sich mit Eisenhämatoxylin färbt. Er nannte es zuerst (1900) »Sphäre«, dann (1900 a) Centrophormium. Es handelt sich um eine Anzahl von Fäden, welche, zu einem Netze zusammengelegt, einen Cytoplasmabezirk umflechten (Textfig. 15*a*).

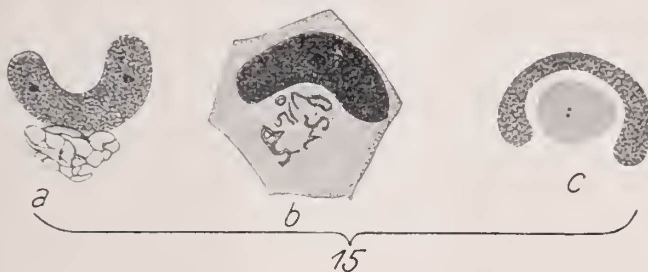
Textfig. 13 u. 14.



Manchmal tritt anstatt des Netzes ein langer gewundener Faden auf, der auch in einzelne Segmente zerfallen kann (Textfig. 15*b*). Im Innern des Centrophormiums ist die Anwesenheit von zwei Körperchen — den Centriolen — zu konstatieren. Ballowitz sagt im Text nichts darüber,

womit der vom Centrophormium umfaßte Raum ausgefüllt ist. Auf Grund der Abbildungen von Präparaten aber, wo das Centrophormiumnetz ungefärbt blieb, ist zu entnehmen, daß die Centriolen in ein Idiozom

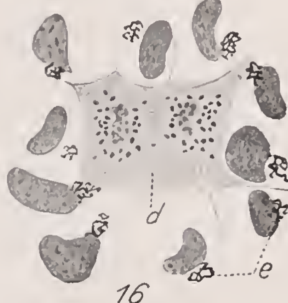
Textfig. 15.



eingeschlossen sind (Textfig. 15*c*), auf dessen Oberfläche das Centrophormium liegt.

Die Umwandlungen der »Centrophormien« während der Karyokinese sind neuerdings von Deineka (1912) sorgfältigst untersucht worden. In der Prophase lockert sich der betreffende Apparat auf und häuft sich an zwei Stellen, die scheinbar den auseinanderweichenden Centrosomen entsprechen. Dann zerfällt das Gebilde in einzelne kurze Stäbchen, die sich zunächst an zwei entgegengesetzten Punkten (an den Polen) ansammeln und allmählich den Kern umgeben. Im Muttersternstadium ordnen sich die Stäbchen in der Äquatorialebene der Zelle. In der Anaphase weichen die Stäbchen nach den Polen auseinander und bilden hier zwei sternförmige Figuren, die allmählich die Centrophormien der Tochterzellen rekonstruieren (Textfig. 16).

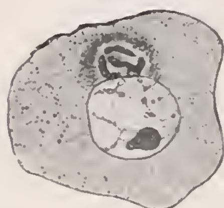
Textfig. 16.



Unter dem Namen »Saftkanäle« beschreibt Holmgren (1900) in Oocyten verschiedener Säugetiere (Kaninchen, Katze, Hund) die folgenden Strukturen. »In der nächsten Nähe des centralen Umfanges« des excentrisch liegenden Kernes »tritt eine mehr oder weniger ansehnliche, rundliche Körnchenansammlung auf [Mitochondrien?] . . . In den meisten Fällen findet sich . . . im Centrum der genannten Körnchenansammlung ein bald rundliches, bald mehr oder weniger unregelmäßig gestaltetes Körperchen . . . Es ist niemals homogen, sondern scheint

bald aus mehreren teils quer, teils mehr in der Länge geschnittenen Stäbchen, die sich oft um einander winden, zu bestehen, bald kanälchenähnliche Bildungen einzuschließen, die als Kanälchen innerhalb der eben genannten Stäbchen hervortreten ...« (Textfig. 17). Dabei fiel es unserm Autor auf, daß »sehr oft die Kernchromosomen gegen den Umfang des Kernes, der gegen die oben erwähnten Strukturen ... hin zeigt, convergierend geordnet sind« [Bukettstadium]. Er findet, daß diese Struktur mit dem »corps vitellin de Balbiani« viel Gemeinsames hat. In manchen Fällen beobachtete Holmgren seine »Saftkanäle« an der Zellperipherie, was von ihm so gedeutet wird, daß diese Gebilde Fortsätze von Bindegewebselementen sind, welche von außen her in die Oocyte eindringen.

Textfig. 17.



Textfig. 18.



Textfig. 19.



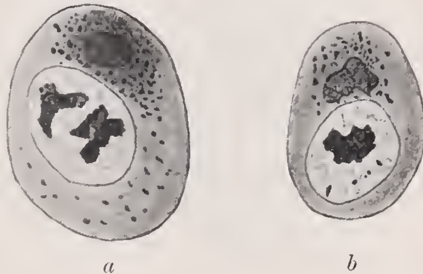
In demselben Jahre beschrieb Gurwitsch (1900) in den Oocyten bei Meerschweinchen ein Idiozom mit zwei Centriolen (Textfig. 18), die zu den Centralkörperchen der Spindel der ersten Reduktionsteilung werden. Aus seinen Abbildungen ist zu schließen, daß ein Bukettstadium während der Wachstumsperiode vorkommt, und daß die Chromatinschleifen gegen den obigen Centralapparat konvergieren (s. seine Fig. 6, Taf. XVI). Es ist ja klar, daß wir in den Säugetieroocyten ein Gebilde haben, welches aus dem Idiozom mit Centriolen und stäbchenförmigen Elementen besteht. Gurwitsch hat nur das erstere, Holmgren die letzteren gesehen.

Den ganzen Komplex hat dagegen v. Winiwarter (1900) vor Augen gehabt. Unter dem Namen »Körper von Balbiani« beschreibt er in den Oocyten des Menschen ein Gebilde, das aus einem hellen kugeligen Körper besteht, welcher ein Centralkörperchen enthält und von einer dunkleren Plasmazone umgeben ist. In der letzteren sind öfters stark färbbare stäbchenförmige Elemente (»spicules«) zu sehen, die bald tan-

gential, bald normal zur Oberfläche des kugeligen Körpers orientiert sind (Textfig. 19). Dieser Autor faßt das Gebilde als »Sphäre« auf. Entsprechende Strukturen hat VAN DER STRICHT (1904) in den Oocyten der Fledermaus unter demselben Namen beschrieben. Er spricht von »Pseudochromosomen«, die ursprünglich den »Kern von BALBIANI« [Idiozom mit Centriol] umgeben, dann sich im Plasma zerstreuen.

In den jungen Oocyten bei Meerschweinchen, die nach der Formaldehyd-Wasser-Osmiumsäuremethode behandelt waren, hat SJÖVALL (1906) eine im Cytoplasma liegende homogene, recht grobe Kapsel gefunden, die ein augenfällig lichteres Centrum [das Idiozom] umschließt. Im Laufe der Oocytenentwicklung teilt sich die Kapsel in gut unterscheidbare, stäbchenförmige Elemente auf, die sich später im Plasma verteilen und mit Vorliebe zur Zellperipherie rücken (vgl. HOLMGREN!). Dieser Autor nennt die in Frage kommenden Gebilde »Binnennetz«. Ganz ähnliche Strukturen hat er auch in den männlichen Keimzellen gefunden.

Textfig. 20.



v. BERENBERG-GOSSLER (1912) hat in den Urgeschlechtszellen von Entenembryonen ein System von dünnen, sich nach HEIDENHAIN färbenden Fäden gesehen, die das Idiozom umflechten (Textfig. 20*b*). In andern Fällen tritt die folgende Konfiguration zum Vorschein: die Fäden sind nicht mehr als einzelne Elemente zu unterscheiden, liegen in einer Ebene und umringen die Sphäre, so daß man denken könnte, es handle sich um einen optischen Schnitt durch eine Kapsel. Dabei sind auch die Centriolen zu sehen (Textfig. 20*a*).

In allen soeben angeführten Fällen haben wir es scheinbar mit Gebilden von derselben Art und zwar mit Homologa des »Nebenkernes« der Pulmonaten zu tun. Das Centriol ist mit voller Sicherheit in den Fällen von MEVES (1896), HERMANN (1897) und GURWITSCH (1900) identifiziert worden. Die umgebende rundliche Masse von differenziertem Protoplasma stellt das Idiozom dar. Ich glaube, daß auch alle faden- bzw. netzförmigen Gebilde, die unmittelbar dem Idiozom anliegen, in den verschiedenen Fällen homolog sind. Der Vergleich dieser Elemente mit denjenigen des »Nebenkernes« der Pulmonaten, drängt sich von selbst auf.

Schon in den ruhenden Spermatogonien von *Vermetus* konnte ich unter Umständen ein Centriol, ein Idiozom und eine Anzahl von stäbchenförmigen Elementen finden, welche das letztere umgeben (Textfig. 2, S. 265). Besonders deutlich tritt das Gebilde in den atypischen Spermatocyten auf. Hier sieht man gewöhnlich auf einem bestimmten Stadium eine Art von Kapsel, die das runde Idiozom umfaßt und sich mit Eisenhämatoxylin stark tingiert (Textfig. 4, S. 271). Dann erscheinen an der Peripherie des Idiozoms tangential gerichtete stäbchenförmige Elemente, die sich allmählich normal zur Idiozomoberfläche orientieren und später ringförmig werden. Im Beginn der Spermiogenese werden sie unsichtbar, ebenso wie das Idiozom, dessen Centralkörnchen sich vermehrt und einem Bündel von Achsenfäden den Ursprung gibt. Dieser Umstand erlaubt uns, dasselbe als Centriol, die umgebende Masse als Idiozom mit Sicherheit zu identifizieren. Zu gleicher Zeit erkennen wir, dank den dem Idiozom anliegenden, stäbchenförmigen Elementen, in dem ganzen soeben besprochenen Komplex den »Nebenkern« der Pulmonaten.

Textfig. 21.



Ein ganz ähnliches Gebilde hat Reinke (1912) in den atypischen Spermatocyten eines andern Prosobranchiers — *Strombus bituberculatus* — gesehen (Textfig. 21). Um das Idiozom liegen die Stäbchen, welche dieser Autor für Mitochondrien hält.

Ich habe versucht, die meisten von den bis jetzt beschriebenen Fällen zusammenzustellen, in denen im Cytoplasma ein Komplex von dreierlei Bildungen zu beobachten war: einem Centriol, einem Idiozom und peripheren Stäbchen oder Fäden, an deren Stelle eine Kapsel oder ein Netz auftreten können. Vorläufig gibt es keinen Terminus, der dieses ganze System umfassen würde. Ich möchte vorschlagen, für dasselbe den Namen »Sphäre« anzuwenden, welcher jetzt als Synonym vom »Idiozom« gebraucht wird. Zum Unterschied von den sogenannten »Attraktionssphären« der karyokinetischen Figur wäre in unserm Fall indessen ratsamer, von einer »Statosphäre« zu sprechen.

Ferner wäre es auch wünschenswert, den äußeren Teil der Statosphäre, welcher bald als eine Anzahl von Stäbchen (oder ein Netz), bald als eine Kapsel auftritt, mit einem bestimmten Namen zu belegen. Um seine innigsten Beziehungen zum Centralapparat zu charakterisieren,

werde ich von »Sphärosomen« bzw. von einer »Sphärotheca« sprechen.

Wir haben also: Statosphäre = Centriol + Idiozom + Sphärosomen (oder Sphärotheca).

Noch einige Worte, um die Notwendigkeit der von mir vorgeschlagenen Termini zu zeigen. In der Tat umfaßten die meisten Benennungen, die sich auf den in Rede gestellten Komplex bezogen, nicht alle seine Bestandteile. So hatte z. B. die Bezeichnung »Nebenkern« hauptsächlich meine Sphärosomen im Auge, seltener auch die verbindende »Grundsubstanz« (Lee), d. h. das Idiozom. Außerdem wurde derselbe Terminus ursprünglich auf ein ganz andres Gebilde angewandt (Mitochondrialkörper, v. la Valette St. George, 1867, 1874) und in diesem Sinne von Meves (1900) gebraucht. Platner (1889) bezeichnet in einer und derselben Arbeit auf diese Weise in einem Falle bei den Pulmonaten, in einem andern bei *Paludina* zweifelsohne ganz verschiedene Gebilde. Anderseits setzt der Terminus »Idiozom«, mit welchem Korschelt u. Heider (1902) sowie Kleinert (1909) den in Betracht kommenden Komplex belegen, nach dem in der Literatur eingebürgerten Wortgebrauch die unbedingte Anwesenheit von Sphärosomen gar nicht voraus und bezieht sich gewöhnlich nur auf das mittlere Concentrum unsres Komplexes. Die Nützlichkeit aber eines Terminus, der die Summe von linearen Elementen umfassen würde, welche das äußere Concentrum der Statosphäre bilden, ist schon daraus zu ersehen, daß mein Begriff »Sphärosome« die »Hauptstrahlen« von Platner (1889), die »Sphäre« und das »Centrophormium« von Ballowitz (1900 und 1900a), die »Saftkanäle« von Holmgren (1900), die »Archoplasmaschleifen« von Hermann (1891 u. 1897), die »Pseudochromosomen« von M. Heidenhain (1900) und van der Stricht (1904), das »Binnennetz« von Sjövall (1906), teilweise die »Chromidien« von Goldschmidt (1904), die »Mitochondrien« von Popoff (1907) und Fauré-Frémiet (1910) sowie die »Dictyosomen« von Perroncito (1910) umfaßt, die ich gleich besprechen werde.

Wollen wir jetzt das Gebilde betrachten, welches von Perroncito (1910) unter dem Namen «appareil réticulaire interne de Golgi» in den Spermatocyten beiderlei Art von *Paludina* beschrieben wurde. Auf Präparaten, die mit Hilfe der Golgischen Imprägnationsmethode behandelt waren, erscheint dieser Netzapparat in den Spermatocyten erster Ordnung als eine Anhäufung von anastomosierenden Fäden, welche einen kleinen Bezirk von besonders differenziertem, chromophilem Plasma (dem »Idiozom« dieses Verfassers) umgibt (Textfig. 22*a*). Ein Centrosom [Centriol] fehlt aber im Innern des in Betracht kommenden Gebildes.

Als solches betrachtet Perroncito (in der atypischen Reihe) ein kleines schlüsselförmiges Körperchen, welches im sagittalen optischen Schnitt die Form eines Halbmondes aufweist. Unser Verfasser scheint nur in der atypischen Reihe das Schicksal des »Netzapparates« ausführlich verfolgt zu haben. Vor Beginn der Karyokinese zerfällt das Gebilde in einzelne Elemente (»Dictyosome«), die sich in einem Kranz anordnen («stade de la couronne»), wobei eine Figur sich bildet, die einer Äquatorialplatte höchst ähnlich sieht. Dann verdoppelt sich diese Figur; die »Tochterkränze« umgeben zwei entgegengesetzte Punkte der Zelle, in denen die beiden Teilungsprodukte des »Centrosoms« liegen (»Dictyokinese«, Textfig. 23). Erst hierauf beginnt die Karyokinese. Dieselben Prozesse finden auch bei der zweiten Reifeteilung statt, nach welcher der »Netzapparat« aus den einzelnen »Dictyosomen« wiederhergestellt wird, obgleich er im reifen Samenkörper nicht leicht nachzuweisen ist.

In der Beschreibung von Perroncito fällt vor allen Dingen als etwas Sonderbares auf, daß sein »Idiozom« ganz unabhängig vom Centralapparat sein soll[1]). Meves (1897), der zuerst diesen Terminus einführte, definierte das Idiozom als eine *specifisch beschaffene Hülle, die die Centriolen umgibt*. Zurzeit kann diese Definition als allgemein angenommen gelten. Es muß nun eines von beiden der Fall sein: entweder hat das »Idiozom« von Perroncito mit dem gleichnamigen Gebilde von Meves und den meisten Cytologen nichts zu tun, und dann erscheint die Anwendung dieses Terminus von dem italienischen Forscher kaum zweckmäßig; oder aber dieser letztere hat Centriolen übersehen, die in Wirklichkeit im Innern seines »Netzapparates« vorhanden sind, und hat für ein »Centrosom« etwas ganz andres gehalten.

---

[1]) Unser Autor konnte nur einen einzigen analogen Fall in der Literatur finden. «Seul Popoff donne une figure dans laquelle les deux centrosomes [Centriolen] avec l'archoplasma respectif sont situés précisément du côté opposé au noyau, contre la membrane nucléaire [?]; l'auteur soutient, étant données les images qu'il a observées, que *la position du centrosome n'est pas nécessairement liée à celle de l'idiozome.*» Offen gestanden, bleibt manches mir in diesem Zitat unklar. Höchst wahrscheinlich handelt es sich um die Fig. 123 (Taf. VI) von Popoff (1907). Der Verfasser kommentiert diese auf S. 36 seiner Arbeit folgendermaßen: »Ich habe das Bild nur darum wiedergegeben, weil es zeigt, daß *der oft zu beobachtende Zusammenhang zwischen Chromidien* [Mitochondrien] *und Centrosomen nur topographischer Natur ist*, bedingt wahrscheinlich durch den Umstand, daß sowohl Chromidien, wie auch Centrosomen gewöhnlich an der Stelle der größten Plasmaanhäufung entstehen.« Es genügt, die von mir betonten Stellen in den beiden Zitaten zu vergleichen, um zu sehen, daß Perroncito das Opfer eines Mißverständnisses geworden ist; bei Popoff ist keine Rede von einem Idiozom.

Für mich ist es unzweifelhaft, daß die zweite dieser beiden Annahmen bejahend zu beantworten ist.

In der Tat, sobald man die Zeichnungen von Perroncito mit denjenigen von Meves (1902) zusammenstellt, die sich auf dasselbe Stadium der atypischen Spermatogenese bei *Paludina* beziehen, wie ich dies auf meiner Textfig. 22*a* bzw. *b* gemacht habe, so kann man sich davon überzeugen, daß der »Netzapparat« des ersteren Forschers sich genau an der Stelle findet, wo bei dem letzteren das Idiozom mit den gut identifizierten Centriolen dargestellt ist. Augenscheinlich ist es dem italienischen Autor mißlungen, die Centriolen zu entdecken, dem deutschen dagegen die linearen Elemente, welche das Idiozom umgeben.

Textfig. 22.



a *b*

Textfig. 23.



Was die »Centrosomen« von Perroncito betrifft, so haben sie gewiß mit dem Centralapparat gar nichts zu tun. Vielleicht entsprechen sie den groben stäbchenförmigen Elementen, die in der Zahl 1—3 sich auch im Cytoplasma der Spermatocyten von *Vermetus* finden, und deren Bedeutung unklar bleibt. Jedenfalls sind es keine Centrosomen oder Centriolen. Die letzteren sind, wie wir gesehen haben, im Innern des Idiozoms enthalten.

Perroncito selbst glaubt, die Frage nach der Lage und dem Benehmen des Centrosoms sei von großer Wichtigkeit für die Deutung der Gebilde, die der Gegenstand seiner Untersuchungen waren. In der Tat, sobald wir die Lage der Centriolen im Innern des Idiozoms entdeckt haben, erkennen wir im »Netzapparat« von *Paludina* das periphere Concentrum der Statosphäre — die Sphärosomen.

Stellt man sich auf diesen Standpunkt, so werden zweifellos, außer den »Pseudochromosomen« und »Centrophormien«, wie dies Perroncito annimmt, in erster Linie auch die stäbchenförmigen Gebilde des Nebenkernes der Pulmonaten als Homologa des Netzapparates von *Paludina*

zu erklären sein[1]): sie entsprechen nicht nur den »Dictyosomen« von *Paludina* nach ihrer Lage und Orientierung, sondern sie machen auch eine regelrechte »Dictyokinese« durch, wie es die Abbildungen von PLATNER (1889, Taf. VIII, Fig. 1—5) und MURRAY (1898, Fig. 12—15) zur Genüge beweisen (s. meine Textfig. 8 u. 10, S. 297).

Es fragt sich nun, was eigentlich die Sphärosomen darstellen? Sind es Bildungen sui generis, oder lassen sie sich auf irgendwelche andre Zellbestandteile zurückführen?

PLATNER (1889) hielt seine »Hauptstrahlen« für modifizierte achromatische Fäden der Teilungsspindel. Ähnliche Anschauungen scheint auch LEE (1896) gehabt zu haben, indem er den »Nebenkern« von dem polaren Teile der Spindel ableitete. Keiner der andern Forscher, die versucht haben, die Herkunft des »Nebenkernes« zu eruieren, hat diese Meinung bestätigt, und sie ist jetzt kaum mehr ernst zu nehmen.

Als GOLDSCHMIDT (1904) seine bekannte Theorie von den zwei Chromatinarten aufstellte, reihte er in die Kategorie des Trophochromatins die Pseudochromosomen, die Centralkapseln, die Centrophormien und die Archoplasmaschleifen ein, wobei er diese Gebilde vom Kerne ableitete. Dieser Standpunkt ist nicht mehr zu vertreten: gegen ihn sprechen sowohl die Farbe-Reaktionen, als auch der Mangel an Tatsachen, die einen genetischen Zusammenhang der genannten Gebilde mit dem Kerne beweisen könnten.

Schon PRENANT (1888) nahm an, daß die Elemente des »Nebenkernes« von *Helix* aus zarteren gewundenen Fädchen entstehen, welche im Plasma zerstreut liegen und jetzt wohl als Chondriomiten zu bezeichnen sind. Denselben Standpunkt vertreten ANCEL (1903), POPOFF (1907)[2]) und FAURÉ-FRÉMIET (1910). Für Mitochondrien hat auch M. HEIDENHAIN (1900) seine »Pseudochromosomen« gehalten und dieselbe Bedeutung hat VAN DER STRICHT den gleichnamigen Gebilden in den Oocyten der Fledermaus zugeschrieben, was auch von BENDA anerkannt wurde (s. VAN DER STRICHT, 1904a u. Diskussion dazu). Endlich glauben FAURÉ-FRÉMIET (1910a) und L. (1911), in den »Dictyosomen« von PERRONCITO »Mitochondrien« erkennen zu können.

---

[1]) Auf die Ähnlichkeit des »Netzapparates« von PERRONCITO mit dem »Nebenkern« der Pulmonaten haben schon FAURÉ-FRÉMIET (1910) und L. (1911) gelegentlich aufmerksam gemacht.

[2]) POPOFF hält seine Mitochondrien für Chromidialbildungen und zugleich die Elemente des »Nebenkernes« für Abkömmlinge des Kernchromatins, wie dies auch GOLDSCHMIDT tut.

Schon BENDA selbst (1899, 1903) hat die Elemente des »Nebenkernes« der Pulmonaten von den Mitochondrien streng unterschieden, womit MEVES (1900) und DUESBERG (1910) vollkommen einverstanden sind. Auch meine Beobachtungen sind in diesem Sinne ausgefallen.

Tatsächlich erscheint das äußere Concentrum der Statosphäre auf einem gewissen Stadium der atypischen Spermatogenese bei *Vermetus* in Form einer Kapsel, die das Idiozom umkleidet und mit der letzteren wie verwachsen ist. Dann konzentriert sich wieder die Substanz dieser Kapsel in eine Reihe von linearen Gebilden. Es gehört also vor allen Dingen zum Charakteristikum der Sphärosomen, daß sie (oder die ihnen entsprechende Sphärotheca) im innigsten Zusammenhange mit dem Idiozom stehen.

Textfig. 24.



Es scheint mir, daß auch in andern Fällen ähnliche Verhältnisse vorliegen. So kann man aus der Beschreibung und den Abbildungen von MURRAY (1898, *Helix* u. *Arion*) mit Sicherheit schließen, daß der »Nebenkern« auf einem gewissen Entwicklungsstadium keine linearen Elemente enthält; wir haben einen gelappten Körper vor uns [das Idiozom], dessen oberflächliche Schicht besonders differenziert erscheint und sich stärker färbt (Textfig. 9, S. 297). Diese Schicht gibt den stäbchenförmigen Elementen den Ursprung, welche sich nachher radial um das Centriol orientieren.

M. HEIDENHAIN (1900, *Proteus*) spricht direkt von »Centralkapseln«, d. h. von geschlossenen Flächengebilden, welche das Idiozom umkleiden (Textfig. 13 *a* u. *b*, S. 300) und zu fadenförmigen Elementen, den »Pseudochromosomen«, werden können. Ich glaube, daß die Vermutung von PERRONCITO (1910), es handle sich hier um Kunstprodukte, unbegründet ist. Sehr lehrreich ist der Vergleich der Fig. 1 *A* von M. HEIDENHAIN (meine Textfig. 13 *c*, S. 300) mit der Fig. 5 von MEVES (1906; meine Textfig. 24), die sich auf die »großen Spermatogonien« von *Salamandra* bezieht. Zweifelsohne ist auch in dem letzteren Falle das Idiozom von einer dicht anliegenden durchlöcherten Kapsel umkleidet. Auch bei *Salamandra* erscheint das Idiozom späterhin mit »Pseudochromosomen« versehen, die sogar in seinem Innern liegen sollen.

Sjövall (1906) hat auch das äußere Concentrum der Statosphäre in Form von einer Kapsel gesehen, die später in einzelne Fragmente zerfällt. Endlich, wie schon erwähnt, beschreibt v. Berenberg-Gossler (1912) Fälle, in welchen das Idiozom der Urgeschlechtszellen von Entenembryonen von einer Kapsel umgeben ist (Textfig. 20*a*, S. 303).

Wir sehen also, daß anstatt der Sphärosomen eine Sphärotheca in einigen ziemlich verschiedenen Fällen dicht an der Oberfläche des Idiozoms vorhanden ist. Sie kann dann wieder zu stäbchenförmigen Elementen werden. Diese Tatsache drängt zu der Annahme, es sei dies keine Ausnahmeerscheinung. Dagegen ist mir kein einziger Fall bekannt geworden, in welchem die Entstehung dieser Elemente aus kleinsten Körnchen (Mitochondrien) mit Sicherheit beschrieben wäre. Doch damit nicht genug: nach Murray (1898) erscheinen die Sphärosomen von *Helix* nicht in Form von linearen Elementen, sondern sie sehen wie kleine Bezirke einer sphärischen Fläche [der ursprünglich ununterbrochenen Kapsel] aus (Textfig. 10, S. 297). Bis jetzt hat man meines Wissens keine Chondriosomen dieser Art kennen gelernt. Ich sehe vorläufig keine Tatsachen, die dafür sprechen würden, daß die Sphärosomen mit Chondriomiten identisch wären.

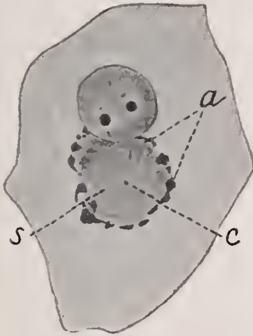
Ballowitz (1900a) identifiziert seine Centrophormien mit dem »apparato reticolare« von Golgi und dessen Schülern. Sjövall (1906) und Perroncito (1910) belegen mit diesem Namen ohne weiteres die Gebilde, welche sie in den Spermatocyten bzw. Oocyten untersuchten. Ich bin der Meinung, es wäre voreilig, zurzeit ein definitives Urteil hierüber zu fällen.

Der »Netzapparat« der Nebennierenzellen, wie er neulich von Pilat (1912) dargestellt wurde, ist zweifellos in die Kategorie der Sphärosomen einzureihen (Anwesenheit eines Idiozoms mit Centriol in manchen Fällen, Textfig. 25). Dasselbe gilt höchst wahrscheinlich auch für den »appareil réticulaire«, den Perroncito (1910) in den männlichen Keimzellen, Deineka (1912) in verschiedenen Epithel- und Bindegewebszellen bei Säugern beschrieben hat. Was aber z. B. den »apparato reticolare« der Nervenzellen betrifft, so möchte ich hierbei die größte Vorsicht empfehlen. In den embryonalen Nervenelementen (Golgi, 1899, Fig. 4) sieht das entsprechende Gebilde, welches eine verhältnismäßig beschränkte Ausdehnung hat und an einem Pol der Zelle liegt, dem »Netzapparat« der Spermatocyten von *Paludina* sehr ähnlich. Da aber in diesem Falle weder ein Idiozom noch ein Centriol gefunden wurden, so durfte es kaum erlaubt sein, das gleichnamige Gebilde in den beiden Fällen ohne

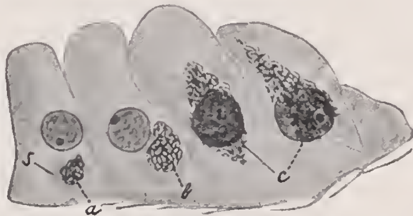
weiteres für identisch zu halten. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich um zwei ganz verschiedene Gebilde handelt, die nach der Behandlung mit Lösungen von Edelmetallsalzen einigermaßen gleich aussehen. Anderseits wäre es auch wohl möglich, daß die Sphärosomen als Ausgangspunkt für die Ausbildung eines mächtigen »apparato reticolare« fungieren könnten. Diese Idee drängt sich einem unwillkürlich auf, wenn man manche Abbildungen von Pilat betrachtet (Textfig. 25 u. 26).

Zum Schlusse möchte ich noch die Versuche erwähnen, die Anwesenheit der Sphärosomen vom phylogenetischen Standpunkte zu erklären. In den 90er Jahren des vorigen Jahrhunderts ist eine Theorie entstanden,

Textfig. 25.



Textfig. 26.



welche behauptete, das Centrosom sei das Homologon eines zweiten Zellkernes. Ich werde nicht die ziemlich lange Geschichte dieser Lehre schildern, über die bis jetzt keine Einigung erzielt wurde. Ich begnüge mich damit, auf die unlängst erschienenen Arbeiten von Chatton (1910) und Gläser (1912) hinzuweisen, in denen die Literatur über die Frage nach der Kernnatur des Centrosoms genügend berücksichtigt wurde. Von dem ersteren Autor wird diese Frage verneinend, von dem letzteren bejahend beantwortet.

Zwei von den Begründern der genannten Theorie, R. Hertwig (1892) und M. Heidenhain (1894), sprachen, indem sie nach gemeinsamen Merkmalen zwischen dem Centralapparat und dem Kerne suchten, die Vermutung aus, die »Archoplasmaschleifen« von Hermann seien rudimentäre Chromosomen des Centrosoms. Beide Forscher (R. Hertwig, 1895; M. Heidenhain, 1900) gaben diesen Standpunkt bald auf. Und doch ist es nicht zu leugnen, daß der Prozeß der »Dictyokinese«,

wie er von Perroncito, Deineka und viel früher von Platner und Murray geschildert wurde, einer Karyokinese sehr ähnlich erscheint, was auch von dem italienischen Autor hervorgehoben wird, der seinerseits versucht, seinen »Netzapparat« mit dem Kerne zu homologisieren.

Auf alle Fälle wird das weitere Schicksal der Frage nach einer Homologie zwischen Chromosomen und Sphärosomen in hohem Maße davon abhängig sein, ob die Lehre von der Kernnatur des Centralapparates definitiv angenommen oder verworfen wird.

Deutoplasmatische Einschlüsse in den männlichen Keimzellen.

Die Hauptmasse des Körpers der atypischen Spermatozoen von *Vermetus* besteht aus großen kugeligen Gebilden, die ähnlich den Dotterkörnern der Eier aus totem Eiweiß bestehen. Es fehlt aber dabei die fettartige Substanz, welche für den Dotter charakteristisch ist. Ganz ähnliche Einschlüsse haben Brock (1887) in den atypischen Samenkörpern von *Pteroceras* und *Strombus*, ich (1910) in den wurmförmigen Spermien von *Aporrhais* beobachtet. Auf Grund der Abbildungen von Retzius (1906) ist zu schließen, daß dasselbe auch bei *Buccinum* stattfindet.

Beträchtliche Deutoplasmaablagerungen sind auch in den andern Samenkörpern zu finden, die zu den Sphärospermia (Waldeyer) gehören. So treten bei Nematoden im Cytoplasma glänzende Körnchen auf, die dem »lichtbrechenden Körper« des reifen Samenkörpers Ursprung geben. Ihre chemische Natur bleibt noch zweifelhaft. O. Hertwig (1890), Scheben (1905) und Marcus (1906) nennen ihre Substanz »Dotter«, Carnoy und Lebrun (1897a) und Romieu (1911) »Nucleoalbumin«.

Ähnliche Gebilde sind auch bei den Decapoda zu finden. Nach den Angaben von Koltzoff (1906) treten glänzende Vacuolen schon im Plasma der Spermatocyten erster Ordnung auf. In den Spermatiden fließen sie zu einer großen Vacuole zusammen, deren Inhalt zur Chitinkapsel des reifen Samenkörpers wird.

Nur als seltene Ausnahmen sind Deutoplasmaeinschlüsse in den Elementen zu finden, welche den Nematospermia (Waldeyer) den Ursprung geben. So hat Blackman (1907) im Cytoplasma der sogenannten »großen« Spermatocyten bei *Scolopendra* eine dotterähnliche Substanz entdeckt. Dasselbe hat Fauré-Frémiet (1910) für die Spermatocyten von *Lithobius* konstatiert. Es sind hier vielleicht noch die kleinen Schollen zu erwähnen, welche Schmalz (1911) in den Spermatocyten von *Monachia* beobachtete.

Ich glaube, daß Marcus (1906) recht hat, wenn er die Anwesenheit von Deutoplasma in männlichen Keimzellen für eine primäre Erscheinung

hält, welcher wir schon bei manchen Protozoa begegnen (z. B. die Paramylumkörner in den Spermatozoen der Gregarine *Stylorhynchus*, Léger, 1904). O. Hertwig (1892) nimmt mit Recht an, »daß Ei- und Samenzellen aus ursprünglich gleichartig beschaffenen, nicht unterscheidbaren Fortpflanzungszellen durch Differenzierung nach entgegengesetzten Richtungen entstanden sind«. Diese besaßen, höchst wahrscheinlich, einen gewissen Vorrat an Reservestoffen. Mit der Differenzierung der Keimelemente in weibliche und männliche, hat die Menge dieser Stoffe in den ersteren zugenommen, während sie in den letzteren meistens gänzlich verschwunden sind. Kein Wunder, wenn auch in den männlichen Keimzellen hier und da die ursprüngliche Eigenschaft der Fortpflanzungselemente — Reservestoffe aufzuspeichern — zutage tritt.

Schon Brock (1887) hat gelegentlich die Vermutung ausgesprochen, daß die glänzenden Deutoplasmakörner der atypischen Spermien von *Pteroceras* in einem genetischen Zusammenhange mit Vacuolen stehen. Nach meinen Beobachtungen sind die Eiweißkugeln der atypischen Samenkörper von *Vermetus* als erstarrter Inhalt von großen Vacuolen aufzufassen. Dasselbe ist auch bei *Strombus* der Fall (Reinke, 1912). Ähnlich scheinen auch die »Körner« zu entstehen, die der »Kapsel« der Decapodenspermien den Ursprung geben (Koltzoff, 1906).

Anders steht es mit den Spermien von *Ascaris megalocephala*, soweit dies nach der am meisten detaillierten Beschreibung von Tretiakoff (1905) beurteilt werden kann, die auch von Romieu (1911) bestätigt wird. Die Anlagen der »lichtbrechenden Körnchen«, die zuerst ganz winzig klein und von den andern Plasmamikrosomen kaum zu unterscheiden sind, werden erst allmählich zu größeren elliptischen Körperchen.

Es ist interessant, den Bildungsmodus der Deutoplasmaeinschlüsse der atypischen Spermien mit dem analogen Prozesse in den Oocyten zu vergleichen. Nach Carnoy und Lebrun (1907) sowie Gurwitsch (1904) werden die Dotterkörner bei den Urodela aus der »Mutterlauge« der Vacuolen »auskristallisiert«. Jörgensen (1910) nimmt dagegen an, daß diese Körner in der Form von kleinsten, scharf umgrenzten Partikelchen auftreten, die in den Knotenpunkten der Plasmawaben liegen und allmählich ihre definitive Größe erreichen.

Literaturverzeichnis.

Ancel, P. 1903. Histogenèse et structure de la glande hermaphrodite d'Helix pomatia. Arch. de Biol. T. XIX.

Auerbach, L. 1896. Untersuchungen über die Spermatogenese von Paludina vivipara. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. XXX.

Ballowitz, E. 1890. Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen, zugleich ein Beitrag zur Lehre vom feineren Bau der contractilen Elemente. Die Spermatozoen der Insekten. (I. Coleopteren.) Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. L.

—— 1900. Ueber das Epithel der Membrana elastica posterior des Auges, seine Kerne und merkwürdige Struktur seiner großen Zellsphären. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI.

—— 1900a. Eine Bemerkung zu dem von Golgi und seinen Schülern beschriebenen »Apparato reticolare interno« der Ganglien- und Drüsenzellen. Anat. Anz. Bd. XVIII.

Benda, C. 1899. Weitere Mitteilungen über die Mitochondrien. Arch. f. Physiol.

—— 1903 (1902). Die Mitochondria. Ergebn. d. Anat. u. Entw. Bd. XII.

v. Berenberg-Gossler, H. 1912. Über gitterkapselartige Bildungen in den Urgeschlechtszellen von Vogelembryonen. Anat. Anz. Bd. XL.

—— 1912a. Die Urgeschlechtszellen des Hühnerembryos am 3. und 4. Bebrütungstage, mit besonderer Berücksichtigung der Kern- und Plasmastrukturen. Arch. f. mikr. Anat., Abt. II. Bd. LXXXI.

Bergh, R. 1895 (1896). Beiträge zur Kenntnis der Coniden (Schiemenz, S. 95). Nova Acta Acad. Caes. Leop.-Carol. Germ. Nat. Curios. Bd. LXV.

Blackman, M. W. 1905. The Spermatogenesis of the Myriapods. III. The Spermatogenesis of Scolopendra heros. Bull. Mus. Comp. Zoöl. Harvard Coll. Vol. XLVIII.

Bloomenfield, V. 1881. The Development of the Spermatozoa. 2. Helix and Rana. Quart. Journ. Micr. Sc. N. S. Vol. XXI.

Bonnevie, K. 1906. Untersuchungen über Keimzellen. Beobachtungen an den Keimzellen von Enteroxenos östergreni. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLI.

Boveri, Th. 1897. Zur Physiologie der Kern- und Zellteilung. Sitz.-Ber. d. phys. med. Ges. Würzburg.

Brock. 1887. Über die doppelten Spermatozoen einiger exotischen Prosobranchier. Zool. Jahrb. Bd. II.

Broman, Iv. 1900. Über Bau und Entwicklung der Spermien von Bombinator igneus. Anat. Anz. Bd. XVII.

v. Brunn, M. 1884. Untersuchungen über die doppelte Form der Samenkörper von Paludina vivipara. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXIII.

—— 1884a. Weitere Funde von zweierlei Samenkörperformen in demselben Tier. Zool. Anz. Bd. VII.

de Bruyne, C. 1903. Contribution à l'étude de la cellule folliculaire des glandes génitales des Gastéropodes. Bull. Acad. Belge.

Buchner, P. 1909. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

—— 1910. Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Ebd. Bd. V.

CARNOY, J. B. et LEBRUN, H. 1897. La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens. La Cellule. T. XII.

—— 1897a. La fécondation chez l'Ascaris megalocephala. Ebd. T. XIII.

CHATTON, ED. 1910. Essai sur la structure du noyau et la mitose chez les Amœbiens. Faits et théories. Arch. d. zool. expér. et génér. 5 série. T. V.

DEINEKA, D. 1912. Der Netzapparat von GOLGI in einigen Epithel- und Bindegewebszellen während der Ruhe und während der Teilung derselben. Anat. Anz. Bd. XLI.

DEMOLL, R. 1912. Die Spermatogenese von Helix pomatia L. Zoolog. Jahrb., Suppl. 15 (SPENGELS Festschr.). Bd. II.

DUESBERG, J. 1910. Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

DUVAL, M. 1879. Recherches sur la spermiogenèse étudiée chez quelques Gastéropodes. Journ. d. Micrographie. T. III.

FAURÉ-FRÉMIET, E. 1910. Etudes sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles. Arch. d'Anat. micr. T. XI.

—— 1910a. A propos d'une note de M. ALDO PERRONCITO sur le réseau de GOLGI des cellules spermatiques. Bull. Soc. Zool. France. Vol. XXXV.

FOOT, K. and STROBELL, E. C. 1911 (1912). Amitosis in the ovary of Protenor belfragei and a Study of the Chromatin Nucleolus. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

GIARDINA, A. 1901. Origine dell'oocite e delle cellule nutrici nel Dytiscus. Intern. Monatschr. f. Anat. u. Physiol. Bd. XVIII.

GLÄSER, H. 1912. Untersuchungen über die Teilung einiger Amoeben, zugleich ein Beitrag zur Phylogenie des Centrosoms. Arch. f. Protist. Bd. XXV.

GODLEWSKI, E. jun. 1897 (1899). O przeistaczaniu spermatyd w plemniki w gruczole obojnaczym Helix pomatia. Rospr. Akad. Umiejetn., Wydz. Mat.-Przyrod., Ser. 2. T. XIV.

GOLDSCHMIDT, R. 1904. Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. XXI.

GOLGI, C. 1899. De nouveau sur la structure des cellules nerveuses des ganglions spinaux. Arch. de Biol. Ital. T. XXXI.

GRANATA, L. 1909. Le divisioni degli spermatociti di »Xylocopa violacea« L. »Biologica«. T. II.

GROSS, J. 1906 (1907). Die Spermatogenese von Pyrrhocoris apterus L. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. XXIII.

GÜNTHERT, TH. 1910. Die Eibildung der Dytisciden. Ebd. Bd. XXX.

GURWITSCH, AL. 1900. Idiozom und Centralkörper im Ovarialei der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI.

—— 1904. Morphologie und Biologie der Zelle. Jena, G. Fischer.

HEIDENHAIN, M. 1894. Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern und Zellenprotoplasma. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIII.

—— 1900. Über die Centralkapseln und Pseudochromosomen in den Samenzellen von Proteus etc. Anat. Anz. Bd. XVIII.

—— 1907. Plasma und Zelle. Handb. d. Anatomie d. Menschen, herausgeg. v. v. BARDELEBEN. Bd. VIII. Abt. 1.

HERMANN, FR. 1891. Beitrag zur Lehre von der Entstehung der karyokinetischen Spindel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXVII.

—— 1897. Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese. Ebd. Bd. L.

Hertwig, O. 1892 (1892—98). Die Zelle und die Gewebe. Jena, G. Fischer.
Hertwig, R. 1892. Über Befruchtung und Conjugation. Verh. d. Deutsch. Zool. Ges.
—— 1895. Über Centrosoma und Centralspindel. Sitz. Ber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. München.
Holmgren, E. 1900. Von den Ovocyten der Katze. Anat. Anz. Bd. XVIII.
Jörgensen, M. 1910. Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von Proteus anguineus (Grottenolm). [Die Wachstumsperiode]. Festschr. f. R. Hertwig, Jena.
Jordan, H. E. 1911 (1912). The Spermatogenesis of the Opossum (Didelphys virginiana) with special reference to the Accessory Chromosome and the Chondriosomes. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.
Keferstein, W. 1862—66. Malacozoa. Abt. 2. Bronns Klass. u. Ordn. d. Tierr. Bd. III.
Kleinert, M. 1909. Die Spermatogenese von Helix (Tachea) nemoralis und hortensis. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. XLV.
Koehler, R. 1888 (1892). Recherches sur la double forme des spermatozoides chez le Murex. Rec. suisse de Zool. T. V.
Koltzoff, N. 1906. Studien über die Gestalt der Zelle. I. Untersuchungen über die Spermien der Decapoden, als Einleitung in das Problem der Zellgestalt. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVII.
v. Korff, K. 1899. Zur Histogenese der Spermien von Helix pomatia. Ebd. Bd. LIV.
Korschelt, E. und Heider, K. 1902. Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. Allg. Teil. 1. Lief., 1. u. 2. Aufl. Jena, G. Fischer.
Kuschakewitsch, S. 1907. Beobachtungen über vegetative, degenerative und germinative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarmes. Arch. f. Protist., Supplem. 1.
—— 1910. Zur Kenntnis der sogenannten »wurmförmigen« Spermien der Prosobranchier. Anat. Anz. Bd. XXXVII.
—— 1911. Über die Entwicklung der Spermien bei Conus mediterraneus Brug. und Vermetus gigas Biv. (Vorläufige Mitteilung.) Biol. Centr. Bd. XXXI.
L . . . ., W. 1911. Referat über den Aufsatz von Perroncito, 1910. Biol. Zeitschrift. Bd. II.
Lams, H. 1908. Les divisions des Spermatocytes chez la fourmi (Camponotus herculaneus L.). Arch. f. Zellforsch. Bd. I.
—— 1910. Recherches concernant le dimorphisme des éléments séminaux chez le Murex. Ann. d. la Soc. d. Méd. d. Gand. T. LXXXIX.
Lee, A. B. 1896. Sur le Nebenkern et sur la formation du fuseau dans les spermatocytes des Helix. La Cellule. T. XI.
—— 1897. Les cinèses spermatogénétiques chez l'Helix pomatia. Ebd. T. XIII
—— 1904. L'évolution du spermatozoïde de l'Helix pomatia. Ebd. T. XXI.
Léger, L. 1904. La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. f. Protist. Bd. III.
v. Lenhossék, M. 1898. Untersuchungen über Spermatogenese. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LI.
Marcus, H. 1906. Ei- und Samenreife bei Ascaris canis (Werner, Asc. mystax). Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII.

Mark, E. L., and Copeland, M. 1907. Maturation Stages in the Spermatogenesis of Vespa maculata Linn. Proc. Amer. Acad. Arts and Sc. Vol. XLIII.

Mayer, Alfr. 1908. Zur Kenntnis der Samenbildung bei Ascaris megalocephala. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. XXV.

Meves, Fr. 1896 (1897). Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII.

—— 1897 (1896). Zellteilung. Ergebn. d. Anat. u. Entw. Bd. VI.

—— 1899. Über Struktur und Histogenese der Samenfäden des Meerschweinchens. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LIV.

—— 1899 a (1898). Zellteilung. Ergebn. d. Anat. u. Entw. Bd. VIII.

—— 1900. Über den von v. la Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI.

—— 1902 (1903). Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entwicklung nach Beobachtungen an Paludina und Pygaera. Ebd. Bd. LXI.

—— 1907. Die Spermatocytenbildung bei der Honigbiene (Apis mellifica L.) nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Ebd. Bd. LXX.

Meves, Fr. und Duesberg, J. 1908. Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse (Vespa crabro L.). Ebd. Bd. LXXI.

Murray, J. A. 1898. Contribution to the Knowlege of the Nebenkern in the Spermatogenesis of Pulmonata. Helix and Arion. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. XI.

Nusbaum, Jos. 1899. Die Entstehung des Spermatozoon aus der Spermatide bei Helix lutescens Ziegl. Anat. Anz. Bd. XVI.

Nussbaum, M. 1884. Über die Veränderungen der Geschlechtsprodukte bis zur Eifurchung, ein Beitrag zur Lehre der Vererbung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXIII.

Otte, H. 1907. Samenreifung und Samenbildung bei Locusta viridissima. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat u. Ont. Bd. XXIV.

Perroncito, Al. 1910. Contribution à l'étude de la biologie cellulaire. Mitochondries, chromidies et appareil réticulaire interne dans les cellules spermatiques. Le phénomène de la dictyokinèse (Resumé de l'auteur). Arch. Ital. de Biol. T. LIV.

Peter, K. 1899. Die Bedeutung der Nährzelle im Hoden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LIII.

Pilat, M. 1912. »Apparato reticolare interno« in den Nebennierenzellen des Igels. Travaux de la Soc. Imp. des Natural. de St. Pétersbourg. T. XLI.

Platner, G. 1885. Über die Spermatogenese bei den Pulmonaten. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXV.

—— 1886. Über die Entstehung des Nebenkernes und seine Beziehungen zur Kernteilung. Ebd. Bd. XXVI.

—— 1886 a. Zur Bildung der Geschlechtsprodukte bei den Pulmonaten. Ebd. Bd. XXVI.

—— 1889. Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Teilungserscheinungen. I. Zellteilung und Samenbildung in der Zwitterdrüse von Limax agrestis. II. Samenbildung und Zellteilung bei Paludina vivipara und Helix pomatia. Ebd. Bd. XXXIII.

Popoff, M., 1907. Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Mit Anhang: Zur Frage nach dem Spermatozoendimorphismus bei Paludina vivipara. Ebd. Bd. LXX.

Prenant, A. 1888. Observations cytologiques sur les éléments séminaux des Gastéropodes pulmonés. La Cellule. T. IV.

Prowazek, S. 1901 (1902). Spermatologische Studien. 1. Spermatogenese der Weinbergschnecke (Helix pomatia L.). Arb. a. d. Zool. Inst. Wien. Bd. XIII.

Reinke, Edw. 1912. A preliminary acount on the development of the apyrene spermatozoa in Strombus and of the nursecells in Littorina. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Holl. Vol. XXII.

Retzius, G. 1905. Zur Kenntnis der Spermien der Evertebraten. II. Biol. Unters. N. F. Bd. XII.

—— 1906. Die Spermien der Gastropoden. Ebd. Bd. XIII.

—— 1909. Die Spermien von Nassa reticulata. Ebd. Bd. XIV.

Romieu, Marc. 1911. La Spermiogénèse chez l'Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

Scheben, L. 1905. Beiträge zur Kenntnis des Spermatozoons von Ascaris megalocephala. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX.

Schenck. 1899. Physiologische Charakteristik der Zelle. Würzburg, Stubers Verlag.

Schenk, S. L. 1875 (1874). Die Spermatozoen von Murex brandaris. Sitz.-Ber. d. Math.-Naturw. Cl. d. K. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. LXX.

Schiemenz. 1895. Siehe Berg, 1895 (1896).

Schleip, W. 1909. Vergleichende Untersuchung der Eireifung bei parthenogenetisch und bei geschlechtlich sich fortpflanzenden Ostracoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

Schmalz, J. 1911. Zur Kenntnis der Spermatogenese der Ostracoden. Zool. Anz. Bd. XXXVII.

v. Siebold. 1836. Fernere Beobachtungen über die Spermatozoen der wirbellosen Tiere. 2. Die Spermatozoen der Paludina vivipara. Müllers Arch. f. Anat., Physiol. u. wiss. Med.

Sjövall, Ein. 1906. Ein Versuch, das Binnennetz von Golgi-Kopsch bei der Spermato- und Ovogenese zu homologisieren. Anat. Anz. Bd. XXVIII.

Soós, L. 1910. A Helix arbustorum hím csirasejtjének fejlödése. Ann. Mus. Nation. Hungar. T. VIII.

Stephan, P. 1903. Sur les spermies oligopyrène et apyrène de quelques Prosobranches. C. R. Soc. Biol. Paris. T. LV.

—— 1903a. Le développement des spermies apyrènes de Murex brandaris. Ebd. T. LV.

—— 1903b. Le développement des spermies apyrènes de Cerithium vulgatum et de Nassa mutabilis Bibliogr. Anat. T. XII.

—— 1903c. Le développement des spermies eupyrènes de Cerithium vulgatum. C. R. Ass. Anat. 5me sess.

Terni, T. 1912. Dimostrazione di condrioconti nel vivente. Anat. Anz. Bd. LXI.

Thesing, C. 1904. Beiträge zur Spermatogenese der Cephalopoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIV.

Tönniges, C. 1902. Siehe Korschelt u. Heider, 1902, p. 524—529.

Tretjakoff, D. 1905. Die Spermatogenese bei Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXV.

TSCHASSOWNIKOW, S. 1905. Über indirekte Zellteilung bei der Spermatogenese von Helix pomatia. Anat. Hefte, 1. Abt. Bd. XXIX.

v. LA VALETTE ST. GEORGE. 1867. Über die Genese der Samenkörper. II. Mitteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. III.

—— 1874. Dasselbe. III. Mitteilung. Ebd. Bd. X.

VAN DER STRICHT, O. 1904 (1905). La structure de l'œuf des Mammifères. Arch. de Biol. T. XXI.

—— 1904a. La couche vitellogène et les mitochondries de l'œuf des mammifères. Verh. d. Anat. Ges.

WASSILIEFF, AL. 1907. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

WEIGL, R. 1912. Vergleichend-cytologische Untersuchungen über den GOLGI-KOPSCHschen Apparat und dessen Verhältnis zu den andern Strukturen in den somatischen Zellen und Geschlechtszellen verschiedener Tiere. Bull. Acad. Sc. Cracovie, cl. sc. math. et nat. Sér. B.

v. WINIWARTER, H. 1900 (1901). Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères (Lapin et Homme). Arch. de Biol. T. XVII.

WOLTERECK, R. 1898. Zur Bildung und Entwicklung des Ostracodeneies. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXIV.

ZIEGLER, H. E. 1898. Experimentelle Studien über die Zellteilung. I. Die Zerschnürung der Seeigeleier. III. Furchung ohne Chromosomen. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. VI.

ZIMMERMANN, K. W. 1891. Über den Kernteilungsmodus bei der Spermatogenese von Helix pomatia. Verh. Anat. Ges.

Tafelerklärung.

Alle Abbildungen, die Fig. 1 und 171 ausgenommen, wurden mit Hilfe des ABBEschen Zeichenapparates auf der Höhe des Arbeitstisches mit dem Objektiv Apochromat 2 mm., Kompensationsocular 12 (von ZEISS), bei Tubuslänge 160 (× etwa 2300) gezeichnet. Die Fig. 1 und 171 wurden auf der Höhe des Mikroskoptischchens mit dem Objekt. 2 mm, Komp.-Ocul. 4 (× etwa 550) entworfen.

Tafel XXIII.

Fig. 1—66. *Conus.*

Fig. 1. Teil eines Querschnittes durch einen Samenschlauch. *Nz* = Nährzelle; *I* = typische, *II* = atypische Reihe; *Sc*, *Ac* = Spermatocyten erster Ordnung; 1 *RT* = erste Reifeteilung (typische Reihe); *Sd* = Spermatiden; *Sz* = Spermatozoen. CARNOY, Bor. Carm. — Eisenhämat.

Fig. 2 u. 3. Keimepithel.

Fig. 2. »Indifferente Zellen«. Fix. n. BENDA, Färb. m. Eisenhämat.

Fig. 3. Basalzellen (Nährzellen). Fix. u. Färb. n. BENDA.

Fig. 4. Oocyte, von Nährzellen umgeben. HERM., Eisenhäm.

Fig. 5—53. Typische Reihe.

Fig. 5—27. Wachstums- und Reifungsperiode.

Fig. 5—9. Fix. und Färb. nach BENDA.

Fig. 5 u. 6. Junge Spermatocyten erster Ordnung.

Fig. 7. Übergang zum Leptotenstadium.

Fig. 8. Leptotenstadium.

Fig. 9. Stadium des »dünnen Buketts«.

Fig. 10. Stadium des »dicken Buketts«. Herm., E.H.

Fig. 11. Pachytenstadium. Fix. u. Färb. n. Benda.

Fig. 12 u. 13. Ausbildung der Chromosomen. Flemm., E.H.

Fig. 14. Äquatorialplatte von oben gesehen. Carnoy, E.H.

Fig. 15. Dasselbe nach Längsspaltung der Chromosomen. Carnoy, E.H.

Fig. 16—20. Verschiedene Stadien der ersten Reifeteilung. Fig. 16 u. 19 Fix. u. Färb. n. Benda; Fig. 17, 18 u. 20 Carnoy, E.H.

Fig. 21. Spermatocyten zweiter Ordnung im Ruhestadium. Fix. u. Färb. n. Benda.

Fig. 22—25. Zweite Reifeteilung. Fig. 22, 24 u. 25 Carnoy, E.H.; Fig. 23 Fix. u. Färb. n. Benda.

Fig. 26. Junge Spermatide mit individualisierten Chromosomen.

Fig. 27. Junge Spermatiden durch Spindelrest verbunden. Fix. u. Färb. n. Benda.

Fig. 28—53. Spermiogenese.

Fig. 28. Junge Spermatide mit zwei Centriolen, durch eine Centrodesmose verbunden. Carnoy, E.H.

Fig. 29—36, 39—52 Fix. n. Färb. n. Benda; Fig. 37 u. 38 Herm., E.H.; Fig. 53 wurde auf Grund von zwei Ausstrichen gezeichnet, die nach Retzius bzw. Biondi bearbeitet waren.

Fig. 29 Stadium der homogenen vacuolisierten Chromatinmasse des Kernes.

Fig. 30—40. Stadien des Kernes in Form einer hohlen Chromatinkugel, und zwar:

Fig. 32—34. Innige Beziehungen zwischen dem Nucleolus der Spermatide und deren Chondriosomen.

Fig. 36. Beginn der Chondriosomenwanderung zum hinteren Pole des Kernes.

Fig. 37 u. 38. Centriole und Achsenfäden am vorderen Kernpole.

Fig. 40. Chondriosome und Nucleolus am hinteren Kernpole.

Fig. 41 u. 42. Verdickung der hinteren Hälfte der hohlen Chromatinkugel des Kernes, Eindringen des gequollenen Nucleolus in die Chromatinmasse, Gruppierung der Chondriosomen um die Basis des Achsenfadens, welcher zum hinteren Pole verlagert wurde.

Fig. 43. Der Kern der Spermatide vom hinteren .Pole gesehen. Kranz von Chondriosomen.

Fig. 44. Weitere Konzentration des Chromatins in der hinteren Kernhälfte. Ausbildung des Achsenstabes aus dem Nucleolus.

Fig. 45. Kern der Spermatiden in Form eines Hängeschlosses.

Fig. 46. Atrophie der vorderen achromatischen Hälfte des Kernes.

Fig. 47—52. Definitive Ausbildung des Spermatozoons, und zwar:

Fig. 47, 48 u. 50. Die Chondriosomen, welche bei dem Ausbau des Mittelstückes unbenutzt blieben, treten vorübergehend in innige Verbindung mit dem Akrosom (Vorderende des Achsenstabes, Derivat des Nucleolus).

Fig. 53. Reifer Samenkörper.

Fig. 54—66. Atypische Reihe, Spermatocyten.

Fig. 54. Spermatocyte mit Kern, welche schon die für den reifen Samenkörper typische Form annimmt und die charakteristischen Vacuolen bildet. Herm., E.H.

Fig. 55—58. CARNOY, E.H.

Fig. 55 u. 56. Ringförmiger Kern und Zerfall desselben.

Fig. 57. Grobgitteriger Kern.

Fig. 58. Fadenförmige Anordnung des Kernchromatins.

Fig. 59 u. 60. Schwinden des Kernes in den Spermatocyten nach der Art *c*, s. S. 257. Fix. n. BENDA; Färb : Fig. 59 n. BENDA, Fig. 60 E.H.

Fig. 61 u. 62. Verschiedenes Aussehen der Chondriosomen. Fix. u. Färb. n. BENDA.

Fig. 63—66. Abtrennung von bläschenförmigen Kernteilchen. Fix. n. BENDA, Färb. m. E.H.

Tafel XXIV.

Fig. 67—120.

Fig. 67—102. *Conus*, atypische Reihe.

Fig. 67—86. Spermatocyten.

Fig. 67—71. Schwinden des Kernes nach der Art *b*, s. S. 256.

Fig. 67—69. Fix. u. Dreifärbung n. FLEMMING.

Fig. 70 u. 71. Fix. n. BENDA, Färb. m. E.H.

Fig. 72—77. Allmähliche Ausbildung des Gitterkernes. Auf der Fig. 74 zwei Centriolen im Plasma.

Fig. 72—76. Fix. nach BENDA, Färb. mit E.H.

Fig. 77 u. 78. Fix. n. CARNOY, Färb. m. E.H.

Fig. 78—84. Schwinden des Kernes nach der Art *a*, s. S. 255.

Fig. 79 u. 80. Ausbildung von Chromosomen.

Fig. 79—85. Fix. n. BENDA, Färb. m. E.H.

Fig. 85. Die letzten Stadien des Schwindens des Chromatins. Fix. n. BENDA, Färb. m. E.H.

Fig. 86. Kernlose Spermatocyte.

Fig. 87 u. 88. Zwei Stadien der Reifeteilung.

Fig. 89—102. Spermatiden und Spermatozoen.

Fig. 89. Spermatide mit einem Anhang, der mit Mitochondrialmasse angefüllt ist.

Fig. 86—89. Fix. u. Färb. n. BENDA.

Fig. 90 u. 91. Spermatiden mit Centriolen und Vacuolen. FLEMMING, E.H.

Fig. 92—94. Bildung von Chondriomiten und Chondriokonten aus Mitochondrien. Fix. u. Färb. n. BENDA.

Fig. 95 u. 96. Samenkörper mit Stützelementen und Vacuolen. FLEMMING, E.H.

Fig. 97. Querschnitt durch die Mitte eines Samenkörpers. Querschnitte der Stützfäserchen als Punkte zu sehen. FLEMMING, E.H.

Fig. 98—101. Entstehung eines Paares von Geißeln unter Beteiligung der Centriolen. HERMANN, E.H.

Fig. 102. Reifer Samenkörper mit Stützelementen und Geißeln. FLEMMING, E.H.

Fig. 103—120. *Vermetus*.

Fig. 103—110. Keimepithel. FLEMMING, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 103. Teil eines Querschnittes durch das Keimepithel. Es sind die Kerne der »indifferenten« Elemente zu sehen, sowie eine Nährzelle (rechts) und deutoplasmatische Einschlüsse.

Fig. 104. Soeben entstandene Nährzelle.

Fig. 105. Erwachsene Nährzelle im Ruhezustand.

Fig. 105—108. Teilungsversuche von erwachsenen Nährzellen.

Fig. 109 u. 110. Teilung von jungen Nährzellen.

Fig. 111—120. Vermehrung der Spermatogonien. FLEMMING, E.H.-Lichtgrün.

Tafel XXV.

Fig. 121—171. *Vermetus.*

Fig. 121—155. Typische Reihe.

Fig. 121—143. Wachstums- und Reifungsperiode. FLEMMING, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 121. Beginn der Bildung von Reihen aus Chromatinkörnchen im Kerne.

Fig. 122. Leptotenstadium.

Fig. 123. Stadium des »dünnen Buketts«.

Fig. 124. Stadium des »dicken Buketts«.

Fig. 125. Pachytenstadium.

Fig. 126—129. Chromosomenausbildung.

Fig. 128. Äquatorialplatte vom Pole gesehen.

Fig. 130. Dasselbe nach der Spaltung der Chromosomen.

Fig. 131—134. Verschiedene Stadien der ersten Reifeteilung.

Fig. 135. Ruhestadium der Spermatocyten zweiter Ordnung.

Fig. 136—142. Verschiedene Stadien der zweiten Reifeteilung.

Fig. 143. Ruhende Spermatide.

Fig. 144—154. Spermiogenese. FLEMMING, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 144—146. Kern in Form einer hohlen Chromatinkugel. Wachstum eines Achsenfadens und Ansammlung der Chondriosomen an dessen Basis.

Fig. 147. Beginn der Konzentration des Chromatins in der hinteren Hälfte des Kernes.

Fig. 148. Spermatidenkern in Form eines Hängeschlosses.

Fig. 149. Atrophie der vorderen achromatischen Hälfte des Kernes. Auftreten der Akrosomanlage.

Fig. 150—154. Ausbildung des Samenkörpers.

Fig. 155. Reifer Samenkörper. Behandlung nach RETZIUS.

Fig. 156—168. Atypische Reihe. Teilungsversuche der Spermatocyten. Fix. n. BOUIN, Färb. m. E.H.-Lichtgrün.

Fig. 169 u. 170. Zwei Schnitte durch eine ruhende Nährzelle. Auf der Fig. 169 ist die strahlige Struktur des Plasmas zu sehen. FLEMMING, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 171. Teil eines Längsschnittes durch einen Hodenschlauch. $Iz =$ indifferente Elemente; $Nz =$ Nährzellen; $Sg =$ Spermatogonien; $SgT =$ Spermatogonienteilung; $Sc =$ Spermatocyten; $1.RT$, $2.RT =$ erste bzw. zweite Reifeteilung; $Sd =$ Spermatiden; $Sz =$ Spermatozoen; $I =$ typische, $II =$ atypische Reihe. BOUIN, E.H.

Tafel XXVI.

Fig. 172—200. *Vermetus*, atypische Reihe.

Fig. 172—183. Spermatocyten.

Fig. 172—174. Beginn des Wachstums junger Spermatocyten. HERMANN, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 175. Weiteres Wachstum der Spermatocyte. Ein Centriol ist in der Idiozomanlage sichtbar geworden. FLEMMING, E.H.-Lichtgrün.



S. Kuschakewitsch del.
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig
Lith Anst. v. ... Arndt, Jena



S Kuschakewitsch del. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig Lith Anst. v Johannes Arndt, Jena.


172.
173
174.
175
176
177
178
179
180.
181
182.
183
184.
185.
186
187.
188
189.
190.
191.
192.
193.
194.
195
196
197.
198.
199
200.

Fig. 176. Idiozom mit einem Centriol darin und mit tangentialen linearen Elementen an der Peripherie. Benda, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 177. Das erste Auftreten von einem grobstäbchenförmigen Element im Plasma. Flemming, E.H.

Fig. 178. Statosphäre mit radiär orientierten Sphärosomen. Flemming, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 179. Anordnung der Chromatinkörnchen zu Reihen. Flemming, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 180. Anordnung der Chromatinkörnchen zu ringförmigen Gruppen. Die dünnen stäbchenförmigen Elemente sind zu kleinen Ringen geworden. Flemming, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 181. Die Teilung des Centriols. Hermann, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 182. Chromatin in Form von massiven unregelmäßigen Elementen. Idiozom mit zwei Centriolen. Zwei gröbere Stäbchen im Plasma zu sehen. Flemming, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 183. Große Anzahl von Centriolen im Idiozom. Flemming, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 184—199. Spermatiden.

Fig. 184. Die Kernmembran ist verschwunden. Die Chromatinelemente bilden eine sphärische Anhäufung. Bouin, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 185—187. Herauswachsen der Stützfäden aus den Centriolen. Die Chromatinelemente liegen im Plasma zerstreut. Bouin, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 188. Ein Fall von ungewöhnlich langer Erhaltung der ringförmigen Sphärosomen im Plasma. Flemming, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 189. Gleichzeitiges Wachstum der Fäden in das Innere der Zelle und nach außen. Bouin, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 190. Ein Fall von Wachstum der Stützfäden zuerst nach außen. Bouin, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 191. Teil eines schrägen Schnittes durch eine Spermatide. Die Fäden sind mit Chromatinelementen verschmolzen. Bouin, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 192 u. 193. Spermatiden mit Achsenbündeln im Innern. Fig. 192 große Vacuolen, Fig. 193 Anfang der Bildung der Eiweißkugeln. Bouin, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 194. Teilung der Chromatinelemente. Bouin, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 195—197. Drei Stadien der Ausbildung von Eiweißkugeln in Vacuolen. Querschnitte durch Spermatiden. Fig. 195 u. 196 Bouin, E.H.-Lichtgrün; Fig. 197 Flemming, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 198. Teil eines Längsschnittes durch eine Spermatide. Die Chromatinreste sind in Form von Körnchen an der Oberfläche des Achsenbündels zerstreut. Hermann, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 199. Längsschnitt durch einen reifen Samenkörper. Chromatin gänzlich verschwunden. Hermann, E.H.-Lichtgrün.

Fig. 200. Reifer Samenkörper. Ausstrichpräparat. Osmiumsäure, E.H.

Zum Bau der Spermien und zur Spermatogenese von Potamobius leptodactylus.

(Astacus leptodactylus.)

Von

Leonid Reinhard.

Mit Tafel XXVII—XXVIII.

Heutzutage gibt es zahlreiche Arbeiten über den Bau von Spermien der *Astacus*-Gattung. Wenn wir die Abbildungen von Spermien, welche verschiedene Verfasser gegeben haben, untereinander vergleichen, so merken wir, daß die Abbildungen einander nicht ähnlich sind. Das veranlaßte mich, an das Studium dieser Frage zu gehen und während meiner mikroskopischen Untersuchungen kam ich zum Schlusse, daß die meisten Verfasser das genannte Objekt gar nicht richtig wiedergeben. Erst in der letzten Zeit ist eine Monographie über »Die Spermien der Crustaceen« von Retzius erschienen, in welcher er eine richtige Abbildung der Spermie von *Astacus fluviatilis* wiedergibt, indem er die Nomenklatur von Koltzoff anwendet. Retzius findet, daß dank den Arbeiten von Grobben[1]), Herrmann[2]) und Sabatier[3]) der Bau der Spermien von *Astacus fluviatilis* ganz aufgeklärt ist. Es scheint uns aber, daß die Schlüsse der eben genannten Verfasser einander widersprechen. Beim Anwenden von verschiedenen Fixiermitteln gelang es mir, Präparate zu bekommen, welche den Abbildungen von verschiedenen Verfassern ähnlich sind. Daraus glaube ich den Schluß ziehen zu können, daß die Ursache der Unähnlichkeit der bis jetzt veröffentlichten Abbildungen in der verändernden Wirkung der Fixiermittel liegt.

[1]) Grobben. Beiträge zur Kenntnis der männlichen Geschlechtsorgane der Dekapoden. Wien 1878. Derselbe. Zur Kenntnis der Decapodenspermien. Nach Referat.

[2]) Herrmann. Notes sur la structure et le développement des spermatozoides chez les décapodes. 1890.

[3]) Sabatier. De la spermatogenèse chez les crustacées décapodes. 1885 ibid. 1893.

Ich untersuchte hauptsächlich die Spermien von *Astacus leptodactylus* (*Potamobius leptodactylus*). Beim Fixieren wurden folgende Flüssigkeiten angewendet:

1. Konzentrierte Sublimatlösung + Essigsäure (5%).
2. Flüssigkeit von Herrmann.
3. Flüssigkeit von Flemming.
4. Lösung von Kaliumbichromat + Osmiumsäure nach Meves.
5. Osmiumdämpfe.

Für die Dauerpräparate gebrauchte ich folgende Farben: Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Hämalaun P. M., Boraxcarmin, Triacidgemisch von Biondi-Ehrlich-Heidenhain, Safranin, Gentianaviolett, Methylgrünessigsäure. Außerdem wurden die Spermien maceriert und lebendig untersucht und in toto mit Biondi-Heidenhain, Bismarckbraun, Methylgrünessigsäure, Neutralrot behandelt. Die besten Resultate erhielt ich bei der Anwendung der Lösung von Kaliumbichromat + Osmiumsäure nach Meves. Meines Erachtens veränderte dieses Fixiermittel die wirkliche Form der Spermien am wenigsten. Für die Untersuchung der Spermatogenese (der Entwicklung der Schwanzkapsel aus den Mitochondrien) war sehr gut die Lösung von Sublimat + Essigsäure (5%).

In der Spermie von *Astacus leptodactylus* können wir drei Teile unterscheiden: den Kopf, den Hals mit den Fortsätzen und die Schwanzkapsel. Der Kopf besteht fast ausschließlich aus dem Kerne und hat eine concavconvexe Form. Sehr gut färbt sich der Kern nach der Behandlung mit Osmiumdämpfen, mit Methylgrünessigsäure, sowie auch mit Triacid-Biondi-Heidenhain ohne vorherige Fixierung (Taf. XXVII, Fig. 1, 2, 3, 4). Auf den gemachten Schnitten färbte sich der Kern auch mit andern Kernfarben nicht weniger intensiv.

Das widerspricht dem, was Herrmann behauptete. Er meinte, daß das Kernchromatin während der Entwicklung der Spermie aus dem Kerne in die Schwanzkapsel (vésicule) übergeht und der chromatinfreie Kern (zone transparente) Fortsätze gibt.

Sabatier schreibt der *Astacus*-Spermie zwei Kerne zu (wie bei Infusorien): einen vegetativen Kern und einen Geschlechtskern (Makro- und Mikronucleus). Der erstere — Makronucleus — transformiert sich und reduziert sich, der zweite — Mikronucleus — übernimmt die Hauptrolle. Es scheint uns, daß diese Annahme unbegründet ist, weil Sabatier den Geschlechtskern in der aus Chitin gebauten Schwanzkapsel (vésicule) sieht: »La tête est formée par la vésicule ou noyau secondaire.«

Der Kern, welcher, wie es oben erwähnt ist, den größten Teil des Kopfes bildet, ist von einer sehr dünnen Plasmaschicht bedeckt, die erst bei der Veränderung des osmotischen Druckes gut sichtbar wird. An jener Stelle, wo der Kern eine Vertiefung hat, zweigen von dem Halse 8—20 Fortsätze ab. Sie färben sich mit den Kernfarben nicht, was die von BRANDES[1]) und KOLTZOFF[2]) ausgesprochene Meinung, daß solche Fortsätze bei den *Macrura* Halsfortsätze sind, bestätigt. Der Hals, von welchem die Fortsätze ausgehen, dringt in den Kern ein und wird von der Schwanzkapsel bedeckt, welche ebenso in diese Kernvertiefung hineintritt. Wir haben also hier eine ähnliche Erscheinung, wie es KOLTZOFF bei *Scillarus* beobachtet hat. RETZIUS meint dagegen, die Spermienfortsätze bei *Astacus* seien Kopffortsätze. Es scheint uns aber, daß unsere Voraussetzung durch die Spermatogenese bestätigt wird.

Den Hauptteil der Substanz der Fortsätze bilden die Mitochondrien. Die Länge der spiralartig gebogenen Fortsätze übertrifft mehrmals den Durchmesser der Spermie selbst.

RETZIUS hat in dem Kopfe der Spermie ein sehr interessantes Gebilde gesehen, welches er ein »Nebenkernorgan« nennt. Ich habe dieses Gebilde in den lebenden, sowie auch in den in toto gefärbten Spermien gesehen. Es gelang mir aber nicht, dasselbe in den fixierten Objekten zu konstatieren und seine Entwicklung während der Spermatogenese zu untersuchen, obgleich ich in den Spermatiden ein Gebilde mehrmals gesehen habe, welches sich mit dem Eisenhämatoxylin sehr gut färbt. SABATIER hat früher ein ähnliches Gebilde beschrieben[3]) und hielt dieses für den degenerierten Kern — boyau nucléaire végétative.

Das Chromatin des Kernes erscheint kompakt mit sehr schwach sichtbarer Körnigkeit. In der Concavität des Kernes, in welcher der Hals und die Schwanzkapsel liegen, findet eine sekundäre Vertiefung Platz, welche eine wichtige Rolle spielt.

Die Schwanzkapsel ist kugel- oder faßförmig und hat an beiden Enden Öffnungen (Taf. XXVII, Fig. 1, 2, 3, 4, 13, 14, 15). Deswegen sieht die Schwanzkapsel, wenn die Spermie auf dem Kopfe liegt, wie ein Ring aus. Bei starken Vergrößerungen sind die beiden Öffnungen nicht gleichzeitig sichtbar. Bei verschiedenen Aufstellungen des Objektivs sieht man entweder innere oder äußere Öffnung, welche mit einem Deckel geschlossen ist. Die Substanz des Deckels ist dieselbe wie die der Schwanzkapsel, aber färbt sich nicht so intensiv. Die innere Öffnung führt in eine sekun-

[1]) BRANDES. Die Spermatozoen der Decapoden. 1897.
[2]) KOLTZOFF. Studien über die Gestalt der Zelle. I. 1906.
[3]) loc. cit. Pl. VII. 220, 221, 222.

däre Vertiefung des Kernes, wo, wie es scheint, der Zentralkörperapparat in gespanntem Zustande liegt. Die Wände der Schwanzkapsel sind dick, und wenn man auf sie von der Seite sieht, so sehen sie wie zwei Säulen oder concav-convexe Linsen aus. Im Innern hat die Schwanzkapsel eine Art Röhre von wechselndem Durchmesser. Das bestätigen jene Schnitte, auf welchen die Schwanzkapsel wie zwei mit einer Quersäule verbundene Linsen aussieht (Taf. XXVII, Fig. 13, 14). An dieser Stelle wird die Röhre der Schwanzkapsel enger. Sie ist im Innern mit einer kompakten Masse ausgefüllt, welche sich fast gar nicht mit den Basalfarben färbt. Die Form dieses Gebildes scheint verschieden zu sein: bald ist sie kugelförmig, bald zugespitzt. Koltzoff hat in den Röhren der marinen Crustaceen eine explodierende Masse beschrieben.

Die Substanz der Schwanzkapsel ist chitinartig. Ich habe die Spermien in kalter Lösung von KOH mehrere Tage hindurch gehalten, sowie auch mit kochender KOH-Lösung bearbeitet. Dadurch wurden alle Teile der Spermie außer der Schwanzkapsel vernichtet. Auf den Abbildungen, welche von solchen Präparaten gezeichnet sind, kann man den Bau der Schwanzkapsel gut sehen (Taf. XXVII, Fig. 9).

Retzius meint, daß man in dem Gebilde, welches im Innern der Schwanzkapsel liegt, den Zentralkörperapparat suchen müßte. Es gelang ihm jedoch nicht, mit den gewöhnlichen Reagentien diesen Apparat zu konstatieren. Auch ich konnte nicht in diesem Gebilde den Zentralkörperapparat finden. Es scheint mir aber, daß das schwarze Band, das auf einem Vertikalschnitte sichtbar ist, eben dieser Zentralkörperapparat ist, welcher in der sekundären Vertiefung des Kernes in gespanntem Zustande liegt (Taf. XXVII, Fig. 13). Diese Vermutung glaube ich durch folgendes bestätigen zu können.

Wir haben erstens mehrere Male das vorher beschriebene Bild nach der Behandlung mit Kaliumbichromat + Osmiumsäure und der Färbung mit Eisenhämatoxylin bekommen. Nachdem der Kern ganz entfärbt war, wurde dieses Gebilde gut sichtbar. Mit andern Farben konnte man das gleiche Bild nicht bekommen (Taf. XXVII, Fig. 15).

Sehr wichtig ist zweitens jenes Bild, welches wir nach der Sublimat + Essigsäure-Behandlung und der Eisenhämatoxylinfärbung bekommen haben. Das Sublimat + Essigsäure-Reaktiv modifiziert die Grundform der Spermien sehr stark. Sie platten sich ab; der Kern wird schmäler, färbt sich jedoch ebenso gut, wie früher; die Schwanzkapsel dreht sich heraus und die äußere Öffnung wird breiter. Auf dem Boden der Schwanzkapsel oder direkt auf dem Kerne entsteht ein kugelförmiges Gebilde, welches bei den französischen Verfassern »tigelle« heißt. Die Präparate,

welche wir nach dieser Methode bekommen haben, sind den Zeichnungen von SABATIER und GILSON[1]) sehr ähnlich (Taf. XXVII, Fig. 10, 11, 12). Beim Vergleichen dieser Schnitte mit den soeben genannten Abbildungen tritt sofort die veränderte Rolle des Fixiermittels klar heraus. Der Zentralkörperapparat, welcher jetzt im Innern des Neugebildes (»tigelle«) liegt, bleibt bei der Entfärbung des Kernes sehr intensiv mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Gegen andre Farben verhält er sich ganz indifferent. Der Zentralkörperapparat ist entweder kugelförmig und sitzt auf einem Stiele oder stabförmig. Wenn man die Spermie im Querschnitte beobachtet, so sieht der soeben genannte Apparat wie eine schwarze Scheibe aus, welche in einer andern, nicht gefärbten Scheibe liegt. Diese zweite Scheibe ist die »tigelle«.

Es ist uns gelungen, nicht nur die beiden Formen von Spermien — die echte und die veränderte — zu bekommen, sondern auch den Übergang von einer zur andern zu beobachten (Taf. XXVII, Fig. 5, 6, 7, 8). Während der Untersuchung der lebendigen Spermien unter dem Mikroskope in einer isosmotischen Lösung von NaCl, wurde die Methylgrünessigsäure hinzugefügt. Sofort trat die Veränderung ein: das Herausdrehen der Schwanzkapsel und die Bildung der »tigelle«. Gleichzeitig färbte sich der Kern sehr intensiv. Der Zentralkörperapparat, welcher in der sekundären Vertiefung des Kernes im gespannten Zustande lag, kommt dabei heraus und legt sich in die Mitte der »tigelle« hinein. Das kann man, wie schon gesagt, nach der Behandlung mit Sublimat + Essigsäure und der Färbung mit Eisenhämatoxylin sehen (Taf. XXVII, Fig. 11).

Es scheint mir, daß es eben die Essigsäure ist, welche diese Veränderung hervorruft. Ich habe auch den Einfluß von Essigsäure allein, Salzsäure und Schwefelsäure untersucht und dabei ähnliche Resultate bekommen. Die Spermien, welche in Triacid-BIONDI-HEIDENHAIN untersucht wurden, behielten ihre Form sehr lange bei. Der Kern färbte sich grün, die Schwanzkapsel rosa-violett und die Fortsätze schwach hellrosa (fast farblos). Es scheint uns, daß das Herausdrehen der Schwanzkapsel mit der »Explosion« der Spermien, welche KOLTZOFF beschrieben hat, verglichen werden könnte. Auch in meinen Versuchen konnte man beim Zusatz von Säure die Bewegung der Spermien konstatieren. Es gelang uns aber nicht, eine solche »Explosion« durch die Veränderung des osmotischen Druckes hervorzurufen. Ich habe die *Astacus*-Spermien in NaCl-Lösung von verschiedener Konzentration mehrere Stunden gehalten und konnte doch keine »Explosion« hervorrufen.

[1]) GILSON. Spermatogenèse chez les Arthropodes. 1886.

Die Versuche mit dem Einflusse von verschiedenen Säuren und Salzen auf die Spermien werden noch fortgesetzt.

Die Spermatogenese.

Die ersten Stadien der Spermatogenese bei *Astacus fluviatilis* sind in zahlreichen Arbeiten ausführlich beschrieben. Auch die Frage von der Verschiedenheit der Mitose ist bearbeitet. Weniger klar ist die Frage der Verwandlung der Spermatiden in reife Spermien.

In den grundlegenden Arbeiten[1]) finden wir den ganzen Cyklus der Entwicklung von *Astacus*-Spermien beschrieben, ohne die Anteilnahme der Mitochondrien in diesem Prozesse zu erwähnen.

Gilson meint, daß die Schwanzkapsel (vésicule) bei der Transformation der gewöhnlichen cytoplasmischen Vacuolen entstehe.

Grobben spricht die Vermutung aus, daß dieses Gebilde ein Tropfen des Nucleinzuckers ist, welcher aus dem Kerne ausgestoßen wird.

Sehr ausführlich beschreibt die Entstehung der Schwanzkapsel Sabatier. Er behauptet, daß neben dem Kerne ein kleines kugelförmiges Gebilde entsteht, welches mit Flüssigkeit erfüllt zu sein scheint. Es vergrößert sich allmählich und transformiert sich in die vollendete Schwanzkapsel.

Die Gestalt der Schwanzkapsel ist sehr gut von Herrmann gezeichnet. Er meint aber, hier sei vorhanden: »une sorte de migration de la substance chromatophile, comme si cette dernière quittait peu à peu le noyau pour se transporter dans la vésicule«.

In jenen Spermatiden, welche mit Eisenhämatoxylin gefärbt sind, kann man in dem Plasma Einschlüsse von zweierlei Art unterscheiden. Beide sind meistens kugelförmig, manche färben sich aber mit Eisenhämatoxylin gelb, andere grau. Gewöhnlich sind die gelben Kugeln an einer Seite der Zelle gesammelt, die grauen an der andern; bald kann man aber auch eine unregelmäßige Verteilung der Kugeln beobachten, wobei die gelben stark überwiegen. Nach der Nomenklatur von Koltzoff sind die grauen Kugeln Mitochondralkörner und die gelben Kapsularkörner. So lange man noch die Mitochondralkörner und Kapsularkörner in der Zelle unterscheiden kann, sind auch ein oder zwei Zentralkörperchen sichtbar (Taf. XXVIII, Fig. 1, 2, 3).

---

[1]) 1. Herrmann, Gilson, Grobben, Sabatier, loc. cit.
2. Keppen. Die Spermatogenese bei *Astacus fluviatilis*. Russisch. 1906.
3. Prowazek. Ein Beitrag zur Krebsspermatogenese.
4. v. la Valette St. George. Über eine Zwitterbildung beim Flußkrebs.

Zuweilen konnte man irgendwelche Gebilde beobachten, welche sich mit Eisenhämatoxylin sehr stark färbten.

Die Kapsularkörner sammeln sich und fließen zu einer Kugel zusammen (Taf. XXVIII, Fig. 4). Mit der Zeit umgeben die Mitochondralkörner den Kern dicht von allen Seiten (Taf. XXVIII, Fig. 5). Von diesem Moment an gelang es uns nicht die Zentralkörperchen weiter zu beobachten. Es scheint uns aber möglich zu sein, daß sie in die Kernvertiefung eintraten, da der Kern gleichzeitig seine Gestalt veränderte. Die weitere Entwicklung der Spermatiden ist die folgende. Die Kugel, welche aus den Kapsularkörnern entstanden ist, nimmt den hinteren Teil der Spermatide ein, und fängt an, sich in die Schwanzkapsel zu verwandeln (Taf. XXVII, Fig. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12). Dabei entstehen die innere Röhre und die beiden Öffnungen. Der Kern nähert sich zur Schwanzkapsel, nimmt eine Kappenform an, die Schwanzkapsel tritt in eine Vertiefung hinein. Zu dieser Zeit entstehen die Fortsätze, wie es uns scheint, aus dem Halse der Spermie. Das den Kern umgebende Plasma wird sehr dünn und fast unsichtbar. Der Zentralkörperapparat nimmt seinen Platz ein. Die verschiedenen Methoden, mit welchen wir die lebendigen und fixierten Spermien behandelten, überzeugten uns, daß der größte Teil des Kopfes aus dem Kerne besteht.

Beim Studieren der Spermatogenese von *Astacus leptodactylus* haben wir auch Anomalien beobachtet. Manchmal konnte man in einer Spermatide, in welcher die Bildung der Schwanzkapsel begonnen hatte, zwei Kerne sehen (Taf. XXVIII, Fig. 13, 14). Ein anderes Mal entwickelten sich in einer Spermatide mit einem Kerne zwei Schwanzkapseln. Das weitere Schicksal dieser Gebilde konnte man nicht verfolgen.

Meine Ergebnisse widersprechen den Ergebnissen anderer Forscher. Ich muß aber nochmals betonen, daß ich an einer andern Art von *Astacus* — *A. leptodactylus* (*Potamobius leptodactylus*) — meine Beobachtungen gemacht habe.

Charkow, Universität, Zootomisches Kabinet.



Wilhelm Engelmann



Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig
Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind mit dem Abbeschen Zeichenapparat, Ob. Zeiss, Immers. 2 mm, Comp.-Oc. 12 oder 18, in Tischhöhe entworfen.

Tafel XXVII.

Fig. 1. In der isosmotischen NaCl-Lösung gelegene, in toto mit der Biondi-Lösung gefärbte *Astacus*-Spermie.

Fig. 2 u. 3. In Osmiumdämpfen fixierte und nachher mit Methylgrünessigsäure gefärbte Spermien, von der Seite gesehen (in toto).

Fig. 4. Eine nach derselben Methode bearbeitete Spermie, von oben gesehen.

Fig. 5, 6, 7, 8. Verschiedene Stadien des Herausdrehens der Schwanzkapsel beim Zusatz von Methylgrünessigsäure.

Fig. 9. Die Schwanzkapsel, nachdem die Spermie in KOH-Lösung bearbeitet wurde.

Fig. 10 u. 11. Mit Sublimat+Essigsäure fixierte und mit Eisenhämatoxylin gefärbte Spermie. Fig. 10 von oben, Fig. 11 von der Seite gesehen. Schwarz — der Zentralkörperapparat, welcher in der »tigelle« liegt; grau — der entfärbte Kern; braun — die Schwanzkapsel.

Fig. 12. Eine Spermie nach der Behandlung mit Sublimat+Essigsäure und nach der Färbung mit Biondi-Heidenhain-Lösung.

Fig. 13. Eine mit Kaliumbichromat + Osmiumsäure fixierte und mit Eisenhämatoxylin gefärbte Spermie. Schwarz — der Centralkörperapparat; grau — der entfärbte Kern; braun — die Schwanzkapsel.

Fig. 14 u. 15. Mit Kaliumbichromat + Osmiumsäure fixierte und mit Carmin gefärbte Spermien.

Tafel XXVIII.

Fig. 1, 2, 3. Spermatiden mit Zentralkörperchen. Grau — Mitochondralkörner, gelb — Kapsularkörner.

Fig. 4. Eine Spermatide. Die Kapsularkörner sind zu einer Kugel zusammengeflossen.

Fig. 5. Dieselbe. Die Mitochondralkörner umgeben dicht den Kern, welcher seine Form veränderte.

Fig. 6, 7, 8, 9. Die Verwandlung der Gelbkugel in die Schwanzkapsel und des Kernes in die Kopfkappe.

Fig. 10. Zwei Querschnitte durch die sich verwandelnde Spermatide: a) durch den Kern und die ihn umgebenden Mitochondralkörner, b) durch die sich entwickelnde Schwanzkapsel.

Fig. 11. Das vorletzte Stadium der Verwandlung der Spermatide.

Fig. 12. Die reife Spermie.

Fig. 13, 14. Anomalien.

Fig. 1—10 und 13, 14. Fixiert mit Sublimat + Essigsäure, gefärbt mit Eisenhämatoxylin.

Fig. 11 u. 12. Fixiert mit Kaliumbichromat + Osmiumsäure und gefärbt mit Eisenhämatoyxlin.

Grassi birifrangenti allo stato cristallino liquido nei tessuti umani.

Del

Dottore **G. Rocchi,**
Assistente.

Clinica Chirurgica della R. Università di Bologna,
Direttore Prof. Comm. G. Ruggi.)

Con 12 Figure nel Testo.

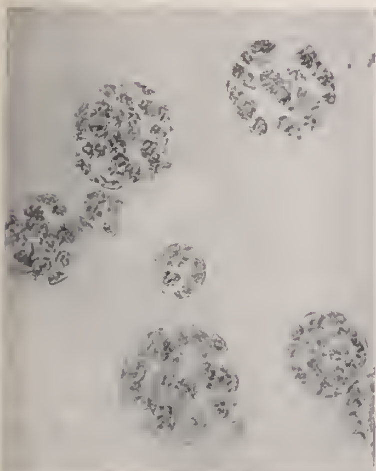
Nei tessuti del nostro organismo si possono trovare delle gocciole di grasso che al microscopio comune si presentano coi caratteri del grasso comune oleoso; al microscopio polarizzatore, però, tali gocciole sono birifrangenti e presentano anche la croce di polarizzazione propria dei cristalli monoassi. I grassi liquidi comuni non sono birifrangenti.

Grassi birifrangenti costituiscono la mielina dei nervi e del sistema nervoso, si trovano sotto forma di gocciole nelle cellule corticali della capsula surrenale, nel timo in via di regressione, nelle cellule luteiniche, nelle cellule dell' arco senile, nell' ipofisi e nel secreto prostatico dell' adulto; nei neoplasmi e nei processi infiammatori e degenerativi cronici e cioè nei: carcinomi e sarcomi degenerati, ipernefroma, xantoma, xantelasmi, gozzo degenerato, nefrite cronica e pieliti croniche e quindi anche nelle urine, cellule alveolari polmonari in processi cronici polmonari e quindi anche nello sputo, piosalpingite, piometra, utero dopo il parto, mastiti croniche, actinomicosi, stafilomicosi, gastrite cronica, angiocolite cronica, atrofia testicolare, retinite albuminurica, ateroma dell' aorta, rammollimenti cerebrali e spinali, lesioni croniche cerebro-spinali, leucociti dei diabetici ecc. ecc.

Quali sono le sostanze grasse che costituiscono i grassi birifrangenti?

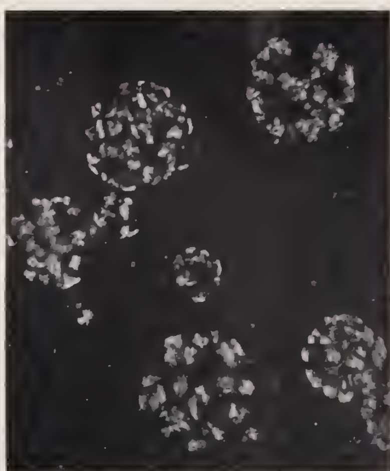
Dastre, Mulon, supposero le gocciole grassose birifrangenti composte di lecitina, Kaiserling ed Orgler parlarono di sostanze lipoidee seguendo il concetto di Overton.

Fig. 1.



Sferule di acido palmitico esaminate al microscopio comune.

Fig. 2.



Sferule di acido palmitico esaminate al microscopio polarizzatore.

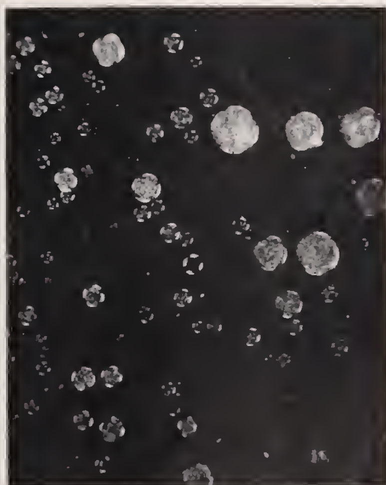
Lehmann suppone che le gocciole di grasso birifrangente che si trovano nel nostro organismo e che io per brevità chiamerò »g. b.«, constino di grasso allo stato cristallino liquido: stato speciale che alcuni grassi

Fig. 3.



Sferule e mielina rotonta di oleato di colesterina esaminate al microscopio comune.

Fig. 4.



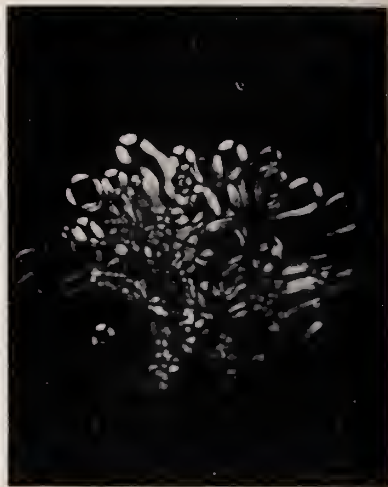
Sferule di oleato di colesterina con birifrangenza irregolare e croce di polarizzazione irregolare. Nel mezzo della figura si nota una mielina rotonda. Il preparato è visto al microscopio polarizzatore.

Fig. 5.



Figure mieliniche ottenute da elementi nervosi dissociati in acqua esaminate al microscopio comune.

Fig. 6.



Le stesse figure mieliniche esaminate al microscopio polarizzatore.

hanno come stato fisico intermedio (1° punto di fusione) passando dallo stato solido al liquido (2° punto di fusione).

Fig. 7.



Nervo fissato in formolo 10%, sezionato al microtomo congelatore ed esaminato al microscopio polarizzatore.

Fig. 8.



Fibre nervose dissociate in glicerina ed esaminate al microscopio polarizzatore.

Fig. 9.



Gocciole (»g. b «) di oleato di colesterina artificiali esaminate al microscopio polarizzatore.

Fig. 10.



Cellule con degenerazione oleo colesterinica esaminate al microscopio polarizzatore.

Un corpo cristallino fluido ha aspetto di sostanza pastosa più o meno fluida e secondo Lehmann sarebbe costituito da molecole cristalline. Le

Fig. 11.



Cilindro e gocciole di oleato di colesterina di un' urina di nefrite cronica esaminate al microscopio polarizzatore coi nikol non completamente incrociati.

Fig. 12.



Lo stesso preparato esaminato al microscopio polarizzatore coi nikol completamente incrociati.

molecole nelle »g. b.« sono orientate in modo regolare dal centro della »g. b.« alla periferia: a tale regolare orientamento è dovuta l'esatta birifrangenza e la croce di polarizzazione. La forma sferica della »g. b.« viene imposta dalla sua tensione superficiale nella parte che confina col liquido ambiente non birifrangente. Le »g. b.« per la loro costituzione fisico-chimica hanno grande affinità con altre formazioni birifrangenti: colle »mieline« o »figure mieliniche« di VIRCHOW. Le »mieline« di VIRCHOW sono granuli, gocciole, forme cilindriche, strane formazioni clavate, con bozze ecc., che presentano un doppio contorno. Esaminate al microscopio polarizzatore, esse sono birifrangenti solo nella loro parte periferica; nella sostanza che sta fra il loro limite esterno ed il contorno interno; dunque in esse appare evidente come la sostanza birifrangente sia disposta alla periferia in uno strato più o meno spesso. La sostanza birifrangente delle mieline è, secondo LEHMANN come quelle delle »g. b.«: sostanza grassa allo stato cristallino fluido. Per spiegare le mieline LEHMANN suppone che nella loro formazione occorrano due sostanze: una sostanza grassosa birifrangente ed una sostanza liquida non birifrangente. Dapprima si formerebbero gocciole di sostanza non birifrangente satura di sostanza birifrangente; la sostanza birifrangente, poi, si separerebbe sotto forma cristallina fluida e si distenderebbe alla superficie della goccia in uno strato più o meno spesso: al centro della goccia rimane la sostanza non birifrangente, talvolta anche in scarsissima quantità. Per fenomeni speciali in cui entrano in azione la forma cristallogenica, la forza direttiva molecolare e la tensione superficiale, la gocciola può allungarsi, può gettare delle bozze ecc. ecc., può dare tutte quelle formazioni che sono caratteristiche delle mieline di VIRCHOW.

VIRCHOW notò questi corpi già fino nel 1854 schiacciando nervi in acqua e diede ad essi il nome di »mieline« o »figure mieliniche«, giudicandole con ogni ragione provenienti dalla mielina del nervo.

Le »mieline« adunque come le »g. b.« sono fatte di sostanze grasse allo stato cristallino fluido, ma contengono nel loro interno, sostanza isotropa; per condizioni, poi, speciali fisiche dei grassi che le costituiscono, esse come ho detto sopra possono assumere svariate forme.

Le »g. b.« secondo ASCHOFF, ADAMI, LOEHLEIN, WINDAUS, PANZER, KAWAMURA ecc. sarebbero costituite di eteri di colesterina. Ecco le ragioni che i sopradetti autori mettono avanti per provare la loro asserzione.

A) Di tutti i grassi birifrangenti che possono dare artificialmente cristalli fluidi in forma di gocciole birifrangenti e cioè: i saponi dell' acido oleico, alcuni fosfatidi e cerebrosidi (lecitina, protagone, cefalina, sfingo-

mielina, frenosina), colesterina con acidi grassi, colesterina con fosfatidi, eteri di colesterina; gli eteri di colesterina sono quelli che con più facilità danno »g. b.« somiglianti alle naturali.

B) Le »g. b.« artificiali di etere di colesterina scaldate ad 80°, perdono la birifrangenza che riassumono per il raffreddamento: fatto che avviene nelle g. b. naturali.

Il riscaldamento ad 80° non altera la birifrangenza delle »g. b.« ottenute dagli altri grassi sopra accennati.

C) Esami chimici di Panzer, Windaus hanno dimostrato in organi ricchi di »g. b.« enorme aumento di composti di colesterina.

D) Alcune colorazioni specifiche o ritenute specifiche per i grassi, colorano nello stesso modo le »g. b.« e gli eteri di colesterina, mentre non colorano nello stesso modo gli altri grassi birifrangenti. Nomino le principali di tali colorazioni:

Nilblau. Tale corpo colora le »g. b.« e gli eteri di colesterina in roseo mentre colora in bleu i saponi, i fosfatidi ed i cerebrosidi. **Rosso neutro.** Tale corpo non colora le »g. b.« e gli eteri di colesterina mentre colora in rosso i saponi, i fosfatidi e cerebrosidi. **Metodo di Smith.** Con tale metodo non si colorano le »g. b.« e gli eteri di colesterina mentre si colorano i saponi, i fosfatidi ed i cerebrosidi.

La costituzione chimica delle »mieline« di Virchow è stata studiata pochissimo: si suppone da Ascoff e Kawamura che tali formazioni possano derivare dai seguenti grassi birifrangenti: saponi dell' acido oleico, lecitina, sfingomielina, cefalina, frenosina, miscugli di colesterina con acidi grassi e con eteri di glicerina: tutti composti i quali artificialmente possono dare figure mieliniche. Da Aschoff e Kawamura si nega che gli eteri di colesterina diano figure mieliniche.

Esperienze personali.

Io ho voluto ricercare con quali grassi si possono ottenere artificialmente le »g. b.« e le »figure mieliniche« per esperienze di controllo, e facendo ancora prove coi principali grassi ed altre sostanze birifrangenti che si possono riscontrare nell organismo umano.

Di tutti i liquidi che gli autori consigliano di mescolare ai grassi birifrangenti per ottenere »g. b.« e figure mieliniche, io ho avuto ottimi risultati usando glicerina pura, a ciò faccio eccezione per i saponi per i quali ho usato acqua ed olio di oliva. Sopra un vetrino portaoggetti io pongo una goccia di glicerina e qualche cristallo della sostanza in esame, scaldo

a forte calore, metto il vetrino coprioggetto, torno a scaldare per stendere uniformemente le sostanze e dopo raffreddamento faccio l'esame al microscopio polarizzatore munito di un tavolino riscaldabile fino a 100° di SCHULTZE secondo il mio metodo (Pathologica 1911).

Ho fatto prove con

1° Acido palmitico (ERBA).
2° Acido stearico (ERBA).
3° Oleato di sodio (MERK).
4° Oleato di potassio (Laboratorio).
5° Oleato di calcio (Laboratorio).
6° Colesterina I (MERK).
7° Colesterina II (Laboratorio).
8° Colesterin oleato (Prof. WINDAUS).
9° Colesterin palmitato (Prof. WINDAUS).
10° Lecitina I (MERK).
11° Lecitina II (MERK).
12° Protagone (MERK).
13° Cerebrina (MERK).
14° Colina (MERK).
15° Betaina (MERK).
16° Tirosina (MERK).
17° Leucina (MERK).

Acido palmitico.

Sferule cristalline birifrangenti in modo irregolare e senza croce di polarizzazione. Non si notano figure mieliniche. La birifrangenza scompare a 62°.

Acido stearico.

Sferule cristalline birifrangenti in modo irregolare senza croce di polarizzazione. Non si notano figure mieliniche. La birifrangenza scompare a 69°.

Oleato di sodio ed oleato di potassio.

Gocciole birifrangenti con croce di polarizzazione; ammassi granulari birifrangenti; figure mieliniche irregolari. Solubilità nell' acqua. La birifrangenza resiste a 100°.

Oleato di calcio.

Assenza di gocciole birifrangenti. Cristallini birifrangenti. La birifrangenza resiste a 100°. Insolubilità nell' acqua.

Colesterina I e II.

Ammassi granulosi irregolari e rotondi birifrangenti in modo irregolare. Sferule cristalline con birifrangenza irregolare e con irregolare croce di polarizzazione. La birifrangenza resiste a 100°.

Colesterin oleato (etere di colesterina dell' acido oleico.)

Ho notato 3 specie di formazioni:

a) Tipiche »g. b.« con regolare birifrangenza, con croce di polarizzazione netta, spesso con anelli colorati (anelli di Newton). Tali formazioni sono piccole, raramente sorpassano la grandezza di un comune leucocito.

b) Corpi rotondeggianti più grossi delle formazioni sopradette, con sostanza granulosa nel centro: la birifrangenza e la croce di polarizzazione sono nel centro irregolari.

c) Corpi granulosi rotondeggianti od irregolari più grandi che non in b; birifrangenza irregolare a forma di mosaico, nessuna croce di polarizzazione.

d) Varie volte mieline rotonde e rarissime volte vere figure mieliniche. — La birifrangenza scompare a 45°.

Colesterin palmitato.

Come il colesterin oleato; la birifrangenza scompare a 78°.

Lecitina (I e II), Protagone, Cerebrina.

Si ottengono gocciole, corpi granulosi irregolari, figure mieliniche: birifrangenti. Nelle gocciole si nota con più o meno regolarità la croce di polarizzazione. La birifrangenza resiste a 100°.

Colla colina,
betaina,
tirosina,
non ho mai ottenuto formazioni che potessero paragonarsi alle »g. b.«.

Da quanto sopra è detto risulta che facilmente cogli eteri di colesterina si possono ottenere formazioni che si possono paragonare alle »g. b.«. naturali; anche coll' oleato di sodio e di potassio, coi fosfatidi e cerebrosidi fino ad ora conosciuti, si possono ottenere formazioni che possono paragonarsi alle »g. b.« naturali.

Tutte le »g. b.« studiate colla mica, cuneo di quarzo e lamina di gesso, hanno dato birifrangenza positiva.

Le mieline si ottengono all' infuori degli acidi grassi, della colesterina e dei saponi di calcio, con tutte le sostanze studiate e quindi anche cogli eteri di colesterina.

Gocciole grassose birifrangenti naturali.

Ho studiato »g. b.« naturali della seguente provenienza:

1° Corteccia surrenale,
2° timo in regressione,
3° testicolo atrofico,
4° ateroma aorta,
5° carcinomi (4 casi),
6° sarcomi (3 casi),
7° ipernefroma,
8° nefrita cronica,
9° secreto prostatico.

Ho poi studiato la mielina dei nervi normali e le »g. b.« che si formano nelle degenerazioni dei nervi.

Ecco i risultati:

Le »g. b.« si possono trovare nell' interno delle cellule e negli spazi intercellulari. Nei preparati ottenuti col microtomo congelatore di pezzi fissati in formalina, le »g. b.« non esistono: nel loro posto stanno cristallini aghiformi a punte smusse. Se il preparato però viene scaldato alla fiamma e poi raffreddato i cristallini si trasformano in »g. b.«

Le »g. b.« viste in preparati per strisciamento possono essere isolate, ma più spesso riunite in ammassi. Spesso gli ammassi derivano da cellule nelle quali si sono accumulate »g. b.« e che per fatti degenerativi hanno perduto il nucleo. La grossezza delle »g. b.« difficilmente sorpassa quella di un grosso leucocito. Si possono poi trovare »g. b.« grosse e con irregolare croce di polarizzazione.

Il calore ha un azione importantissima: salvo poche eccezioni le »g. b.« naturali perdono la loro birifrangenza se scaldate a più di 45°: fanno certamente eccezione la mielina dei nervi e le »g. b.« dei nervi degenerati che resistono anche ad un riscaldamento di 100°.

Il forte raffreddamento quale si può ottenere coll' anidride carbonica, può trasformare le »g. b.« in cristallini aghiformi a punte smusse. Tutte le »g. b.« naturali, da me studiate colla mica, quarzo e col gesso hanno dimostrato una birifrangenza positiva. Le »g. b.« naturali non sono solubili nell' acqua.

Figure mieliniche naturali.

Io ho ottenuto figure mieliniche naturali nei seguenti casi:

1° Nei nervi dissociati in acqua, dopo 24—48 ore.

2° Rare volte in tumori maligni degenerati con molte »g. b.«; in sedimenti urinari di nefrite cronica con molte »g. b.«, ed anche nel secreto prostatico di adulto, ho riscontrato figure mieliniche rotonde. Le figure mieliniche dei nervi non perdono la birifrangenza a 100°, si colorano in bleu col Nilblau. Le figure mieliniche dei tumori maligni, del sedimento urinario in casi di nefrite cronica e del secreto prostatico di adulti, perdono la birifrangenza a 45°, si colorano in rosso col Nilblau. Secondo me le prime sono costituite da lipoidi, le seconde da oleato di colesterina.

Conclusioni.

I.

Per i risultati ottenuti dallo studio al microscopio polarizzatore munito del tavolino riscaldabile delle »g. b.« naturali e delle »g. b.« artificiali concludo quanto segue:

Le »g. b.« naturali si distinguono in due tipi: »g. b.« che perdono la birifrangenza a 45° e »g. b.« che conservano la birifrangenza anche sopra 100°. La mielina dei nervi conserva la birifrangenza a 100°. Le »g. b.« naturali che perdono la birifrangenza a 45° si colorano in roseo con Nilblau e quindi esse risultano costituite da oleato di colesterina. La mielina dei nervi e le »g. b.« naturali che non perdono la birifrangenza a più di 100° si colorano in bleu col Nilblau, non si sciolgono nell' acqua: esse sono costituite da lipoidi. — Le »g. b.« naturali adunque non sono solamente costituite da eteri di colesterina, anche i lipoidi possono dare tipiche »g. b.« e lipoidi allo stato cristallino liquido costituiscono la mielina dei nervi.

II.

Confrontanto i risultati da me ottenuti per le mieline artificiali e le mieline naturali io concludo:

Le figure mieliniche come le »g. b.« si distinguono in due specie: figure mieliniche colorabili in bleu col Nilblau, con birifrangenza a 100°: costituite da lipoidi; figure mieliniche colorabili in roseo col Nilblau, con birifrangenza che a 45° scompare: costituite da oleato di colesterina.

Le figure mieliniche naturali, adunque, oltrechè dai lipoidi possono essere date da etere di colesterina. Ciò fino ad ora era stato negato dagli istologi.

Bibliografia.

Adami e Aschoff. Proc. Royal Soc. 1906.
Aschoff. Zieglers Beiträge. 1910.
Dastre. Thèse de Paris. 1876.
Kaiserling ed Orgler. Virchows Arch. 1902.
Kawamura. Die Cholesterinesterverfettung. C. Fischer, Jena.
Lehmann. Flüssige Kristalle. Leipzig. Engelmann. 1904.
Loehlein. Verhandl. d. d. Pathol. Ges. X. Tagung 1907.
Mulon. C. R. Soc. Biol. Paris 1903.
Panzer. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1907.
Rocchi. Pathologica. 1911.
Windaus. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1909.
Virchow. Virch. Archiv. 1854 e 1855.

Ricerche sulla biologia dei condriosomi.

Condriosomi e pigmento retinico.

Per

Emerico Luna.

Aiuto e Professore incaricato di Istologia generale.

(Dall' Istituto di Anatomia umana normale della R. Università di Palermo, diretto dal Prof. R. Versari.)

Con tavola XXIX.

Uno degli argomenti più controversi tra gli istologi moderni è quello riguardante il posto che bisogna assegnare ai condriosomi nella biologia cellulare. Agli entusiasmi dei primi osservatori è subentrata l'osservazione calma e paziente di molti altri studiosi, sicchè il lavoro affrettato che condusse alle primitive scoperte viene ora ripetuto sopra un campo più vasto, ed i risultati sottoposti ad una critica più rigorosa.

Per quanto riguarda più specialmente l'importanza dei condriosomi nei processi di differenziazione cellulare, è merito del Levi[1]) di avere intrapreso questo lavoro di critica, studiando il modo di comportarsi dei condriosomi nei diversi tessuti embrionali e seguendoli poi nell' ulteriore sviluppo. Egli ha potuto in tal modo notare che, pur restando ben salde le basi delle nuove dottrine istologiche, iniziatesi con le ricerche di Altmann, Meves, Benda ecc., alcuni giudizi debbono essere modificati e molti fatti richiedono ancora il lume di una ulteriore osservazione. —

Ogni ricerca quindi, sia pure la più modesta, ha la sua importanza come contributo alla conoscenza del condrioma, ed alla sua funzione come organulo cellulare.

Nelle ricerche, che formano l'oggetto della presente nota, mi son proposto di studiare l'importanza dei condriosomi nella genesi del pig-

[1]) G. Levi. Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. italiano di Anat. e di Embriol. Vol. X. fasc. 1. 1911.

mento retinico, argomento questo che è stato già da me studiato negli animali adulti e che ora ho ripetuto del punto di vista della istogenesi.

In una nota preventiva ho riferito i primi risultati ottenuti esaminando l'epitelio pigmentato della retina di *Bufo* a completo sviluppo[1]). Questo epitelio risulta costituito da uno strato di cellule alte nelle quali si riconosce facilmente una cupola protoplasmatica ed una base pigmentata: nella prima si nota la presenza di una grande quantità di bastoncini e di granuli, che si colorano con i metodi comunemente impiegati per lo studio dei condriosomi. Essi per la loro forma e per le loro dimensioni sono molto simili ai granuli di fuscina; come in questi, il maggior asse è quasi costantemente diretto nel senso della maggiore lungheza della cellula: solo eccezionalmente, in vicinanza della lamina vitrea della coroide, si hanno bastoncini disposti trasversalmente rispetto all' asse longitudinale della cellula.

In quella nota preventiva ho avanzato l'ipotesi che esista una stretta relazione tra mitocondri e fuscina. »I primi, elaborati nella zona delle cellule dell epitelio che guarda la coroide, progredendo verso la zona pigmentata, si caricherebbero della sostanza che rappresenta il pigmento retinico: essi cioè sarebbero i portatori della fuscina. E poichè questa, com' è noto, si consuma continuamente sotto l'azione della luce, si avrebbe continuamente una elaborazione di mitocondri nella parte basale della cellula. Questa ipotesi è giustificata oltre che dalle nostre conoscenze sulla probabile funzione dei mitocondri, e dalla loro rassomiglianza, nell' epitelio pigmentato, con i granuli di fuscina, anche del fatto che nel limite di transazione tra la zona mitocondriale e quella pigmentata i mitocondri assumono caratteri morfologici e tintoriali tali per cui, in qualche caso, non è possibile stabilire se siamo di fronte all' una od all' altra formazione.

Ad un' altra particolarità ho accennato nella nota preventiva sopra ricordata, e cioè alla presenza, nella massa citoplasmatica, dei grossi granuli aleuronoidi i quali col metodo Regaud assumono la stessa tinta dei mitocondri. Ed aggiungevo: »se a questo si aggiunge che attorno ad essi i mitocondri sono addensati in maggiore quantità, è facile pensare che i cosidetti granuli aleuronoidi rappresentino i focolai di produzione dei bastoncini mitocondriali«.

---

[1]) E. Luna. Ricerche istologiche sugli epiteli. L'apparato mitocondriale nelle cellule dell'epitelio pigmentato della retina. Arch. di Anat. pat. e Sc. affini. Anno VI. f. 2. 1911.

Ho esteso anche ad altri animali le mie ricerche, e specialmente in Columba livia mi è stato possibile apprezzare delle particolarità che confermano l'ipotesi da me avanzata[1]).

Dopo pubblicazione della mia nota preventiva è apparso il lavoro di Levi[2]) il quale, come ho già detto, ha studiato la funzione dei condriosomi nei processi di differenzione cellulare, estendendo le sue ricerche a molti tessuti ed organi, compreso anche l'epitelio pigmentato della retina. Come materiale di studio ha prescelto il pollo, ed ha trovato che in un embrione di 88 ore le cellule dell' epitelio esterno della retina contengono abbondanti condrioconti, mentre il pigmento non è ancora formato. In embrioni di 106 ore i condriosomi persistono quasi invariati nell' epitelio esterno della retina, ma vi si è depositato in quantità rilevante del pigmento, in forma di granulazioni o di corti aghi di una tinta molto vivace (fuscina). L'A. non ha ritrovato negli embrioni a questo stadio una localizzazione del pigmento verso la parte retinica dell'epitelio, come nell'adulto, ma le granulazioni e gli aghi di fuscina sono disseminati per tutto il corpo cellulare, ed anzi queste granulazioni formano degli ammassi più cospicui sulla superficie coroidea dell' epitelio, in una regione la quale nell' adulto è priva di granulazioni di fuscina. In questi embrioni, come anche in embrioni di 127 ore, il Levi non ha potuto notare alcun rapporto tra condrioconti e pigmento. In quanto al modo con cui avviene la deposizione della fuscina, egli ritiene che questo pigmento si depositi dapprima in forma granulare e successivamente le granulazioni si riuniscono fino a formare i lunghi aghi che caratterizzano l'epitelio pigmentato. Egli esclude che la fuscina derivi da trasformazione diretta dei condriosomi, per quanto la presenza di accumuli di questa sostanza e di condriosomi all' estremo coroideo della cellula possa in apparenza giustificare questa supposizione. Ma altri argomenti, secondo il Levi, permettono di escluderlo; anzitutto che i condriosomi, anzichè diminuire, aumentano col depositarsi della fuscina; inoltre la fuscina si presenta dapprima in forma granulare, mentre i condriosomi sono sempre filamentosi.

Quasi contemporaneamente al lavoro di Levi è apparso quello di Szily[3]) sull' origine del pigmento melanotico. Questo A. ha prescelto l'embrione di pollo come materiale di studio ed ha ottenuto dei risultati

---

[1]) E. Luna. L'app. mitocondriale nelle cellule dell'epitelio pigmentato della retina. Arch. f. Zellforschung. Bd. IX. H. 1. 1912.

[2]) G. Levi. Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. di Anat. e di Embriologia. Vol. X. f. 1. 1911.

[3]) Szily. Über die Entstehung des melanotischen Pigments. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVII. Hft. 2. 1911.

i quali confermano quanto io aveva precedentemente ammesso. Nell' embrione dal 4° al 5° giorno il pigmento retinico appare in forma di sottili bastoncini, accanto ai quali si trovano anche inclusioni pigmentate rotondeggianti e fusate. Il pigmento in questo stadio è ammassato nella regione della zona basale della cellula. Accanto ai bastoncini di pigmento, Szily ha notato la presenza di formazioni le quali hanno forma, aspetto e grandezza eguali ai bastoncini di pigmento: ne differiscono solo perchè non sono pigmentati. Essi si colorano intensamente con tutte le sostanze che colorano il nucleo. In uno stesso preparato è facile vedere come da forme non pigmentate si passi per gradi ai bastoncini di fuscina, sicchè l'A. considera i primi come gli stadi più giovanili del pigmento. Quanto all' origine di questi Pigmentträger, l'A. non esita ad affermare che essi provengono dal nucleo, e quindi si debbono fare rientrare nella grande categoria dei cromidi.

Anche Champy[1]) ha studiato il problema riguardante l'origine del pigmento retinico. Egli dice che le cellule dello strato pigmentato della retina si possono considerare come secretorie, perchè esse hanno una polarità netta: un polo sanguigno nutritivo verso la coroide, ed un polo pigmentario secretorio. Si trovano al polo nutritivo mitocondri allungati che terminano verso l'altro polo con una estremità affilata: »il semblent là se fragmenter en grains fusiformes, non encore pigmentés, qui se colorent ultérieurement«. L'A. dice che questo è un bello esempio della trasformazione diretta dei mitocondri in prodotti elaborati. Inoltre egli ha trovato alla base della cellule pigmentate dei »Nebenkerne« identici a quelli del pancreas. I condrioconti sono disposti attorno come se essi provenissero dal Nebenkern. Anche Kreibich[2]) si è interessato dell' origine del pigmento retinico. Questo A. attribuisce una grande importanza, nella genesi del pigmento, a quei corpi speciali che Boll ed Angelucci chiamarono corpi aleuronoidi, Kühne corpi mieloidi, e che io ritengo siano delle sostanze lipoproteiche[3]). Non riferisco dettagliatamente l'importante lavoro di Kreibich: mi limito a riferire quanto egli scrive a proposito dell' origine del pigmento: »Das Retinapigment entwickelt sich aus dem Myeloid. Der

[1]) Champy. Rech. sur l'absorp. intest. et le rôle des mitoch. dans l'absorption et la sécrét. Arch. d'Anat. micr. XIII. 1911.

[2]) Kreibich. Zur Entstehung des Retinapigmentes. Berliner klin. Wochenschr. 1902. Nr. 9.

[3]) E. Luna. Ricerche istol. ed istochimiche sulla retina dei vertebrati. Arch. di Anat. di patol. e Sc. affini. 1911.

E. Luna. Mon. Zool. ital. 1911.

E. Luna. Ricerche fatte nel Laboratorio di Anat. di Roma etc. Vol. XVI. f. 3—4. 1912.

Satz gilt nur für das erwachsene Auge, seine Ausdehnung auf das embryonale Auge müßte Gegenstand eigener Untersuchungen sein.« Il Kreibich conferma quindi quanto io ho scritto nella nota preventiva a proposito dell' orgine dei condriosomi, e quindi del pigmento retinico, dai corpi aleuronoidi.

Leplat [1]) in un lavoro pubblicato recentemente sullo sviluppo e la struttura della membrana vascolare dell' occhio degli uccelli, ha studiato anche l'origine del pigmento retinico, ed ha ammesso la sua dipendenza dai condriosomi. E finalmente credo opportuno ricordare le importanti ricerche di Prenant [2]). Questo A. paragona le cellule dell' epidermide con quelle dell' epitelio corneale nelle larve di Anfibi. Le prime sono pigmentate, le seconde prive di pigmento. Queste ultime presentano, invece dei granuli pigmentati, delle formazioni mitocondriali disposte come il pigmento nelle cellule epidermiche. Queste osservazioni fanno pensare al Prenant che i mitocondri si trasformano in granuli di pigmento.

Come risulta da questa rapida rassegna bibliografica, il problema dell' origine del pigmento retinico è importante e molto controverso: esso poi si riconnette ad un altro problema più generale, quale è quello riguardante la funzione dei mitocondri nella genesi del pigmento. Ho creduto quindi conveniente ampliare le ricerche che mi hanno condotto ai primi risultati, e specialmente mi sono interessato di studiare l'argomento dal punto di vista istogenetico.

Come materiale di studio ho utilizzato larve di *Bufo vulgaris*, appunto perchè in questo animale ho ottenuto i reperti che mi hanno fatto avanzare l'ipotesi dell' origine del pigmento dai condriosomi.

A rendere però le ricerche più complete, ho utilizzato anche gli occhi di embrioni di pollo in varie epoche di sviluppo, e finalmente gli occhi di animali adulti delle varie classi dei vertebrati. Come metodo di tecnica ho adoperato quello classico del Regaud, il metodo Regaud con qualche leggera modificazione, il metodo Benda. Di quest' ultimo metodo mi sono però servito prevalentemente per ottenere preparati di controllo. Onde ottenere contemporaneamente la depigmentazione e la colorazione dei condriosomi ho adoperato il metodo che già per altre ricerche mi ha dato ottimi risultati [3]).

---

[1]) Leplat. Recherches sur le développement et la structure de la membrane vasculaire de l'œil des oiseaux. Arch. de biologie. 1912.

[2]) Prenant. Mitochondries de la peau et de la cornée des Amphibiens. C. R. Assoc. Anat. Paris 1911.

[3]) E. Luna. Sulla importanza dei condriosomi nelle genesi delle miofibrille. Arch. f. Zellforschung. Bd. IX. H. 3. 1913.

Incomincerò col descrivere i reperti ottenuti nelle larve di *Bufo*.

Nelle larve di mm. 4 l'epitelio pigmentato è rappresentato da uno strato di cellule appiattite, nelle quali il nucleo ha una posizione centrale (fig. 1). La zona volta verso la retina presenta una grande quantità di granuli di pigmento. Granuli di pigmento si trovano anche, sebbene in numero molto limitato, nella zona volta verso la coroide: qui prevalgono invece i granuli mitocondriali, i quali hanno la stessa grandezza di quelli pigmentati. In preparati depigmentati essi appaiono con maggiore evidenza, e si nota che mancano affatto nella zona verso la retina. Nelle cellule si hanno scarsi dischi vitellini. Solo raramente si incontrano elementi in cariocinesi.

Nelle larve di mm. 6—9 l'epitelio si presenta quasi con gli stessi caratteri descritti nella larva precedente: si nota solamente che i granuli di pigmento, aumentati di numero, si estendono sempre più nella zona volta verso la coroide. Si hanno anche qui cellule in attività cariocinetica (fig. 2): in esse i condriosomi si dispongono all' intorno della figura nucleare e specialmente in vicinanza dei suoi due poli.

Nella larva lunga mm. 10 le cellule dell' epitelio pigmentato sono più alte e presentano una grande quantità di pigmento, situato prevalentemente nella zona retinica. Il pigmento è in forma di granuli, un po' più grossi di quelli riscontrati negli stadi precedenti: solo raramente si riscontrano brevi aghi di fuscina. Tra i granuli e gli aghi pigmentati si hanno tutti gli stadi di passaggio. Il condrioma è situato nella zona volta verso la coroide ed è, specialmente in alcuni punti, abbondantissimo. Esso è rappresentato da granuli, che si colorano intensamente con l'ematossilina, ed hanno presso a poco la grandezza dei granuli di pigmento. Solo raramente si riscontrano brevi bastoncini mitocondriali: fra questi ed i granuli si hanno tutti gli stadi di passaggio. Nella larva di mm. 17 le cellule sono alte ed hanno assunta la forma che esse presentano nell' individuo adulto (fig. 3). Nella zona volta verso la coroide si notano abbondanti granuli mitocondriali, alcuni dei quali sono molto grossi: solo raramente essi hanno la forma di brevi bastoncini. Nella zona retinica invece si hanno granuli di pigmento, e, specialmente fra i segmenti esterni dei coni e dei bastoncini, aghi di fuscina. In vicinanza del nucleo il pigmento è spesso in forma di grossi blocchi i quali risultano dalla riunione di molti granuli. I rari mitocondri bacillari sono generalmente della stessa lunghezza degli aghi di fuscina.

Nella larva di mm. 22 le cellule dell' epitelio pigmentato sono molto alte e presentano le particolarità ricordate nello stadio precedente. I granuli e gli aghi di fuscina sono più grossi e così pure i granuli ed i bastoncini

mitocondriali. Il metodo Regaud lascia inoltre riconoscere la presenza di grossi granuli, che si colorano intensamente con l'ematossilina e che rappresentano forse gli stadi primitivi dei globi aleuronoidi.

Nella larva di mm. 30 (fig. 4) si nota nell' epitelio pigmentato la presenza di grossi granuli aleuronoidi, situati prevalentemente nella zona volta verso la coroide. I condriosomi sono in forma di granuli e di bastoncini. Il pigmento è situato più specialmente nella zona volta verso la retina ed è costituito in gran parte da aghi di fuscina, mentre i granuli sono più rari. Nell' epitelio pigmentato di un piccolo *Bufo*, lungo cent. 4, si notano (fig. 5) presso a poco le condizioni che si hanno nell' adulto: nella zona coroidea si hanno, oltre a globi aleuronoidi, mitocondri in forma di grossi e tozzi bastoncini, insieme a rari granuli: nella zona retinica invece prevalgono gli aghi di fuscina insieme a rari granuli di pigmento. Di più in questo stadio ho notato una particolarità degna di nota, e cioè alcuni dei grossi corpi aleuronoidi, a stratificazione concentrica, si risolvono in filamenti più o meno lunghi e sottili, i quali si allontanano dal loro centro di origine. Fra questi filamenti ed i bastoncini mitocondriali si hanno tutti gli stadi di passaggio. La fig. 5 riprodotta fedelmente dal vero, è più dimostrativa di qualunque descrizione.

Descriverò ora i reperti ottenuti esaminando una collezione completa di occhi di pollo, in varie epoche di sviluppo, trattati col metodo Regaud e col metodo Benda. Non mi fermo nella descrizione dei primi stadi embrionali: rimando per questo alla descrizione del Levi, che le mie ricerche hanno pienamente confermato.

Incomincerò con la descrizione dell' epitelio pigmentato in un embrione di 96 ore (fig. 6). Già in questo stadio l'epitelio esterno della retina presenta una certa quantità di pigmento in forma di granuli ed eccezionalmente di brevi bastoncini, situati nella zona volta verso la coroide. I condriosomi sono distribuiti irregolarmente per tutto il corpo cellulare, ma sono più abbondanti ai poli del nucleo, ove hanno la forma di brevi bastoncini e, più raramente, di granuli; nel resto del corpo cellulare essi appaiono come lunghi filamenti, più o meno tortuosi.

Nell' embrione di 120 ore (fig. 7) le cellule dell' epitelio pigmentato appaiono più basse. Il pigmento è più abbondante, e mentre prima esso occupava la zona cellulare volta verso la coroide, ora incomincia ad estendersi anche verso la retina. Tale pigmento si presenta in forma di granuli e di bastoncini. I condriosomi non sono più così abbondanti come negli stadi precedenti: essi sono distribuiti irregolarmente per tutto il corpo

cellulare, ma più specialmente sono situati nella zona volta verso la coroide, ed hanno la forma di granuli e di brevi bastoncini, che differiscono dai granuli e dai bastoncini di fuscina solo perchè non sono pigmentati. In questo stadio non si hanno quelle forme lunghe filamentose, riscontrate negli stadi precedenti.

Negli stadi successivi si nota una diminuzione progressiva del condrioma, mentre aumenta la fuscina: arriviamo così agli embrioni di 197 ore nei quali si nota (fig. 8) la mancanza assoluta di condriosomi e tutto il corpo cellulare è pieno di sottili aghi di fuscina. Solo quà e là il pigmento si presenta in forma di granuli, ma in tali casi permane il dubbio che si tratti di aghi di fuscina sezionati trasversalmente.

Dall' 8° giorno fino al 16° giorno di incubazione le cellule dell' epitelio pigmentato presentano sempre le stesse particolarità istologiche e cioè abbondanza di pigmento in forma di aghi ed assenza di condriosomi.

Dal 17° giorno in poi incominciano ad apparire nella zona volta verso la coroide dei granuli (fig. 9) i quali si colorano intensamente con l'ematossilina, e trattati col Benda assumono una colorazione violetta. Spesso i granuli sono insieme così raggruppati da formare blocchetti irregolari. Solo raramente si nota in mezzo ad essi qualche formazione ad anello e qualche bastoncino.

Negli ultimi giorni di incubazione si rende sempre più evidente la distinzione, nelle cellule dell' epitelio pigmentato, di una zona coroidea, contenente granuli (raramente anelli e bastoncini) con i caratteri tintoriali sopraricordati, e di una zona retinica, nella quale si addensa la fuscina. —

In un pulcino di 32 ore (fig. 10) si nota che i granuli tingibili col Regaud e col Benda sono aumentati di volume e di numero: alcuni di questi granuli presentano al centro uno spazio chiaro e quindi hanno la forma di anelli: altri hanno la forma di bastoncini, e rassomigliano ai bastoncini di fuscina, verso i quali si prolungano.

Nel pollo adulto (fig. 11—12) le cellule sono alte e presentano una zona retinica, piena di aghi di fuscina, ed una zona volta verso la coroide, nella quale i metodi anzidetti mettono in evidenza abbondanti corpi di aspetto e di forma vari. Alcuni si presentano come grossi granuli, più o meno regolarmente rotondeggianti od ovoidali: altri hanno la forma di tozzi bastoncini, diritti o leggermente incurvati, i quali rassomigliano molto alla fuscina. Oltre ad i granuli ed ai bastoncini, si nota anche la presenza di formazioni ad anello, con centro chiaro, od anche di corpi a forma di U, e che si possono considerare come anelli rotti in un punto del loro contorno. Esaminando attentamente tutte queste formazioni, si vede che esse rappresentano gli anelli di passaggio attraverso ai quali da una

forma primitivamente granulare si arriva alla forma bacillare. E cioè il granulo iniziale, ingrossandosi, presenta al suo centro una parte non colorata e quindi si ha l'aspetto di un anello; poi l'anello si ingrandisce e quindi si spezza in un punto, assumendo la forma di una U: finalmente le due branche della U si rendono indipendenti l'una dall'altra e si hanno due bastoncini, paralleli tra di loro. E di queste coppie di bastoncini si vedono in una stessa cellula parecchi esemplari.

La zona retinica, nella quale abbonda il pigmento, e quella coroidea nella quale abbondano le formazioni sopradescritte e che io considero, come vedremo appresso, di natura mitocondriale, non sono nettamente separate, ma l'una passa insensibilmente nell' altra (nel *Bufo* il fatto è più evidente), sicchè in un tratto intermedio si hanno bastoncini di fuscina e bastoncini non pigmentati.

Riassunto.

I risultati soprariferiti confermano l'ipotesi da me avanzata sui rapporti che intercedono tra condriosomi e pigmento. Questa ipotesi è stata anche confermata dalle ricerche di Szily, di Champy e da quelle più recenti di Leplat. Il Levi ha escluso la derivazione della fuscina dal condrioma, e ciò dipende, a parer mio, dal fatto che egli ha studiato la formazione della fuscina negli embrioni di pollo, e la ricerca in questo materiale di studio non si presta per una chiara dimostrazione della mia ipotesi.

Prima di passare al riepilogo dei risultati sopraesposti, credo opportuno accennare ad una quistione d'ordine generale. Io ho descritto nell' epitelio pigmentato di molti animali delle formazioni granulari, bastonciniformi, anulari, che ho considerato sempre come condriosomi. Ma sono essi realmente appartenenti a quella categoria di organuli endocellulari che, intravisti da Maggi, Zoja, Altmann, sono stati in seguito più completamente studiati da Meves, Benda ecc. e formano oggi oggetto di studio di molti istologi? Noi non abbiamo dati sicuri per potere stabilire la natura mitocondriale di una determinata formazione: per tale giudizio dobbiamo servirci di alcuni criteri, morfologici, chimici e biologici, e solo dall' esame positivo di molte ricerche possiamo, con una relativa sicurezza, decidere sulla difficile quistione. Per quanto riguarda le formazioni da me descritte nelle cellule dell' epitelio pigmentato di embrioni e di animali adulti, io credo che esse debbono rientrare nella categoria dei condriosomi. Essi hanno di fatti caratteri morfologici identici a quelli che comunemente si attribuiscono a questi ultimi, e si presentano od in forma di granuli, o di bastoncini, o di filamenti: alcuni hanno anche la forma di

anelli e ricordano le formazioni anulari descritte da alcuni autori e recentemente da Levi. Per quanto riguarda la loro natura chimica, ho notato che i liquidi fissatori contenenti alcool o discrete quantità di acido acetico impediscono che le colorazioni successive le mettano in evidenza. Essi poi sono rivelabili col metodo Regaud, e finalmente col metodo Benda acquistano quella tinta violetta che è stata fino ad ora, sebbene a torto, considerata come specifica pei condriosomi. Per quanto poi riguarda il modo di comportarsi di queste formazioni nel processo di divisione cellulare, ho già ricordato come, almeno in larve di *Bufo*, il loro comportamento sia eguale, nelle linee generali, a quello descritto pei mitocondri da numerosi osservatori. La ricerca di tale condizione biologica nell' individuo adulto riesce infruttuosa, appunto perchè non si riscontrano mai nell' epitelio pigmentato a completo sviluppo cellule in attività cariocinetica.

Per tutte queste ragioni io credo quindi che i granuli, i bastoncini e gli anelli delle cellule di questo epitelio siano realmente di natura mitocondriale.

Nell' inizio della loro formazione o, meglio, della loro derivazione dai primitivi elementi cellulari embrionali, i condriosomi dell' epitelio pigmentato seguono le leggi generali che sono state fissate dalle ricerche di molti osservatori. In seguito offrono a considerare delle particolarità importanti, che noi esamineremo separatamente nel pollo e nel *Bufo*.

Nell embrione di pollo i condriosomi dell' epitelio pigmentato della retina sono dapprima molto abbondanti, ma in seguito essi si riducono sempre più di numero, fino a che scompaiono del tutto (8° giorno di incubazione). L' osservazione più attenta, la tecnica più accurata, non riescono a rivelare in questo stadio la presenza di condriosomi nelle cellule pigmentate. Dall' 8° giorno fino al 16° giorno di incubazione circa, queste cellule presentano sempre le stesse particolarità istologiche, e cioè grande quantità di pigmento ed assenza di condriosomi. Al 17° giorno circa riappare il condrioma in forma di granuli prima e poi di brevi bastoncini ed anelli, ed io ritengo che questi elementi sono di natura mitocondriale, appunto perchè dei condriosomi hanno tutte le note morfologiche e chimiche. Ritornerò più avanti sull' argomento e dirò la probabile ragione di questa nuova apparizione dei mitocondri. Qui mi limito a rilevare quanto risulta dalle ricerche soprariferite, e cioè che negli elementi cellulari, o per lo meno in quelli da me esaminati, si può avere una produzione tardiva, autoctona dei condriosomi. Il fatto non è stato prima d'ora notato, ed io sono persuaso della gravità della mia affermazione, la quale è in antitesi con il principio fondamentale che ha finora regolato

tutte le nostre conoscenze sulla biologia dei condriosomi e che si riassume nel ben noto aforisma di Duesberg: «omne mitochondrium e mitochondrio»; ma d'altro lato i reperti da me ottenuti, per quanto attentamente esaminati e vagliati e sottoposti ad una critica rigorosa, non mi permettono di venire ad una conclusione diversa. Si può semplicemente obiettare che le formazioni da me studiate non appartengano alla grande categoria dei condriosomi: a questa obiezione, che non può essere sostenuta da fatti positivi, perchè fino ad oggi non abbiamo elementi sicuri per la diagnosi esatta di condriosomi, io non potrei rispondere, per la stessa ragione, con fatti decisamente positivi. È certo però che gli elementi granulo-bacillari delle cellule dell' epitelio pigmentato hanno, come ho già detto, caratteri tali che le fanno rientrare nella categoria dei condriosomi. Ad ogni modo, nonostante la sua evidenza, io mi limito ad enunciare con una certa riserva il fatto da me osservato, e cioè che »in un elemento cellulare privo di condriosomi si può avere la formazione ex novo di un apparato mitocondriale«. Mi auguro che ricerche ulteriori di osservatori valenti portino nuova luce sopra un argomento così importante.

L'apparato mitocondriale dell' epitelio pigmentato del pulcino e del pollo ci offre un esempio abbastanza chiaro del modo secondo il quale si effettua la moltiplicazione dei condriosomi in uno stesso elemeto cellulare. L'argomento è stato molto discusso e le opinioni degli Autori non sono concordi. A proposito della moltiplicazione dei mitocondri, Heidenhain[1]) fa rilevare che non è stata fino ad oggi osservata la loro moltiplicazione per scissione: se questo fosse constatato, si avrebbe, secondo l'A., la prova decisiva per ammettere l'individualità dei mitocondri. Giglio Tos e Granata[2]) hanno trovato più casi che avrebbero potuto essere interpretati come veri fenomeni di scissione di mitocondri, ma per scrupolo di esattezza non hanno voluto pel momento tenerne conto. »Le difficoltà che si incontrano non sono già di osservazione, ma di interpretazione. Sovente abbiamo visto due mitocondri avvicinati l'uno all' altro e collegate da un tenuissimo filamento. Se si dovesse giudicare per analogia con quanto si osserva in altri granuli nella cellula, per esempio nei centrioli, si avrebbe ragione di considerare una simile disposizione come indizio di una vera scissione. Ma nel caso dei mitocondri, sia per il loro grande numero, sia per la tendenza che hanno a disporsi a catenelle, questo giudizio è tuttavia un po' azzardato, non potendo essere ben sicuri

---

[1]) Heidenhain. Plasma u. Zelle. 1907.

[2]) Giglio Tos e Granata. I mitocondri nelle cellule seminali maschili. Biologica. Vol. II. 1902.

che si tratti veramente della scissione di un granulo primitivo o non piuttosto del riunirsi di due granuli.«

Anche Rubaskin[1]) crede di aver visto mitocondri in via di divisione, ma si esprime in proposito con molta riserva. Hoven[2]) ha visto nella cellula pancreatica condriosomi i quali terminano a forcina, altri disposti parallelamente uno all' altro e separati da un intervallo poco apprezzabile. Queste figure sembrano dimostrare che si produca una moltiplicazione del condriosoma per divisione longitudinale, e questa è stata la prima impressione dell' Hoven; in seguito egli però ha così spiegato il reperto: »il est très possible aussi que les figures que j'ai observées soient dues simplement à ce fait que des filaments mitochondriaux sont en contact soit sur toute leur longeur, soit sur une partie de leur trajet«.

Fauré-Fremiet[3]) infine ha osservato e descritto la scissione dei mitocondri, mentre Russo[4]) non ha mai osservato tale scissione.

Nell' epitelio pigmentato di pulcino e di pollo si vedono (fig. 11—12) numerose coppie di condriosomi, in forma di corti bastoncini, disposti parallelamente l'uno vicino all' altro. L'esame attento di queste e di tutte le altre formazioni mitocondriali nelle cellule anzidette, ci permette di avanzare l'ipotesi che da una forma granulare iniziale si passi, attraverso ad una forma anulare, alla disposizione a coppie anzidetta, che precede quella definitiva di bastoncini isolati. Rimando per maggiori dettagli a pag. 351. Basandomi quindi sui reperti ottenuti nel pollo, io credo di potere affermare che esiste un vero processo di moltiplicazione dei mitocondri per divisione longitudinale.

Esaminiamo ora il modo di comportarsi dei condriosomi nell' epitelio pigmentato del *Bufo*. Sin dal primo inizio della formazione di tale epitelio, le cellule contengono un condrioma in forma di piccoli granuli, i quali nei processi di cariocinesi si mantengono inalterati e si dispongono attorno alle figure nucleari assumendo quelle disposizioni che sono stato descritte da numerosi autori a proposito di altri elementi cellulari. Negli stadi successivi oltre ai granuli si riscontrano bastoncini, i quali poi nell' adulto aumentano sempre di numero. Già nei piccoli bufi si presentano nelle cellule dell' epitelio pigmentato altri elementi, i cosidetti corpi aleuronoidi, i quali pare abbiano dei rapporti abbastanza intimi col condrioma. Ho visto di fatti (fig. 5) che questi aleuronoidi si risolvono in sottili laminette,

---

[1]) Rubaskin. Chondriosomen u. Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. Anat. Hefte. 1910.

[2]) Hoven. Contr. à l'étude du fonct. des cellules glandulaires... An. Anz. 1910.

[3]) Fauré-Fremiet. La continuité des mitoch. etc. An. Anz. 1910.

[4]) Russo. Ancora sui mitocondri dell'oocite di coniglia. An. Anz. 1910.

in filamenti più o meno lunghi, i quali si allontanano poco a poco dal centro di origine e si portano nella zona dove abbonda il pigmento. Fra questi filamenti ed i bastoncini mitocondriali si hanno tutti gli stadi di passaggio, sicchè io credo di potere affermare che nell' epitelio pigmentato di *Bufo* si ha una continua produzione di condriosomi a spese dei corpi aleuronoidi. Questo fatto era stato da me notato nel *Bufo* adulto; ma là, almeno nei preparati colorati col Regaud, il fatto non è così evidente come nei giovani bufi. Negli animali adulti trattati col metodo Regaud avevo di fatti trovato »che attorno ai corpi aleuronoidi i mitocondri sono addensati in maggiore quantità«. Questo reperto mi aveva già fatto intravedere che i cosidetti corpi aleuronoidi rappresentino focolai di produzione dei bastoncini mitocondriali[1]), od almeno »che essi intervengano in qualche modo nel processo di formazione dei condriosomi«[2]). Anche oggi, rivedendo i preparati sui quali ho condotto le prime ricerche, non mi è stato possibile riscontrare forme di corpi aleuronoidi che rassomiglino a quelle riscontrate nei giovani bufi. D'altro lato, avendo avuto occasione di esaminare l'epitelio pigmentato di *Bufo* adulto trattato col metodo Ciaccio, mi è stato possibile apprezzare quelle stesse immagini che il metodo Regaud rivela nei giovani bufi. Io non saprei come spiegare questa diversità di reperto: comunque è certo che nei giovani bufi i corpi aleuronoidi si risolvono in bastoncini mitocondriali; nell' adulto invece i preparati ottenuti con lo stesso procedimento rivelano la presenza di abbondanti granuli mitocondriali attorno ai corpi aleuronoidi.

Szily ha recentemente[3]) ammesso che i bastoncini dell' epitelio pigmentato della retina appartengono ai cosidetti cromidi, e cioè essi provengono dal nucleo. Io non ho mai riscontrato l'origine nucleare dei granuli e dei bastoncini, ed anche recentemente Leplat[4]) si è dichiarato di tale avviso.

Studiato così il modo di comportarsi dei condriosomi nell' epitelio pigmentato di pollo e di *Bufo*, esaminiamo ora quali rapporti intercedano tra questi ed il pigmento. Uno sguardo alle figure del mio lavoro già citato dimostra meglio di qualunque descrizione come tra le due forma-

---

[1]) E. Luna. (Nota preventiva citata).

[2]) E. Luna. L'apparato mitoc. nelle cellule dell'epitelio pigmentato della retina. Arch. f. Zellforschung. 1912.

[3]) Szily (loc. cit.).

[4]) Leplat (loc. cit.).

zioni debbono essere dei rapporti intimi. Rimando per maggiori dettagli a pag. 43 di detto lavoro [1]).

Presso a poco gli stessi reperti ho ottenuto in *Columba livia* e, meno chiaramente, nel pollo.

Le ricerche istogenetiche soprariferite forniscono nuovi elementi in favore della mia ipotesi. Nell' embrione di pollo si osserva anzitutto la particolarità, notata prima d'ogni altro da Levi, e cioè che prima appare il condrioma e successivamente il pigmento: questo è dapprima in forma di granuli (Levi) e si trova così intimamente commisto al condrioma (in forma di filamenti e di granuli) che è impossibile stabilire una dipendenza da questo; giustamente quindi il Levi, esaminando stadi giovanissimi di embrioni di pollo, non ha creduto di dovere ammettere la derivazione del pigmento dal condrioma. È importante però notare che nelle fasi successive, man mano che si produce il pigmento, il condrioma va scomparendo, fino a che nell' embrione di 197 ore scompare del tutto; in questo stadio le cellule sono cariche di pigmento. Il condrioma riappare negli ultimi giorni di incubazione.

La neoformazione dei condriosomi nelle cellule dell' epitelio pigmentato si spiega con la funzione di queste cellule ed è un argomento in favore della dipendenza del pigmento dai condriosomi. Com' è noto, la fuscina si consuma continuamente sotto l'azione della luce, e però, accanto ad un processo distruttivo, si ha continuamente la formazione di nuovo pigmento. I condriosomi ereditati dalle primitive cellule embrionali si consumano nella elaborazione della prima fuscina, la quale non viene utilizzata dall' embrione fino a che esso è racchiuso nell' uovo. Appena viene alla luce, incomincia, con la funzione retinica, la distruzione del pigmento ed è quindi necessario che si riformino gli organi produttori del pigmento, e cioè i condriosomi. Nè contraddice questa ipotesi il fatto che il nuovo condrioma si forma quando il pulcino non è ancora venuto alla luce: la cellula, che sarà presto chiamata alla sua funzione specifica, incomincia già dagli ultimissimi giorni di incubazione il lavoro di preparazione, e produce dei granuli che nel pulcino neonato diventeranno bastoncini e come tali utilizzabili per la formazione della fuscina. Ed è probabile che sia questa la ragione della scomparsa e della riapparizione del condrioma, perchè nei girini, nei quali si ha fin dall' inizio della vita l'azione diretta della luce sulla retina e quindi la distruzione del pigmento, il condrioma è sempre esistente nelle cellule dell' epitelio pigmentato.

Nelle larve di *Bufo* è impossibile stabilire se il condrioma si formi

---

[1]) E. Luna: loc. cit. Arch. f. Zellforschung. Bd. IX. H. 1. 1912.

prima del pigmento, perchè tutte le cellule dell' organismo sono, sin dalle prime divisioni cellulari, pigmentate e tutte contengono un condrioma. Nelle larve dei primissimi giorni il condrioma è rappresentato da granuli ed anche il pigmento è granulare: quando poi il pigmento diventa prevalentemente bacillare, anche il condrioma è rappresentato quasi esclusivamente da bastoncini. È questo un particolare che viene in appoggio dell'ipotesi sopraricordata. Però è bene notare che in qualche raro caso il pigmento è bacillare, mentre i mitocondri sono granulari. In qualche caso si ha ancora che la fuscina è bacillare solo nella zona più retinica della cellula, e cioè là dove questa è in rapporto con i coni ed i bastoncini della retina, mentre nella zona media essa è a forma di granuli e nella parte coroidea i condriosomi sono quasi esclusivamente granulari. Tutti questi fatti si possono spiegare ammettendo, come recentemente ha ammesso Leplat, che il granulo già pigmentato sia capace di un ulteriore accrescimento ed anche allungamento. Si può quindi ammettere che mentre d'ordinario un granulo ed un bastoncino mitocondriale diventano rispettivamente un granulo ed un bastoncino di fuscina, in qualche caso il granulo mitocondriale diventa un granulo di fuscina il quale a sua volta, allungandosi, assume la forma di un sottile ago.

Ho parlato fin qui di intimi rapporti che intercedono tra condrioma e pigmento: è però importante stabilire ancora più precisamente il grado di questi rapporti. In altri termini, nella loro evoluzione in granuli di fuscina, i condriosomi si trasformano in pigmento o si sovraccaricano di pigmento?

Questo problema è stato studiato specialmente da Galeotti [1]), Fischel [2]) ecc. Ricordo inoltre le ricerche di Leydig [3]), Reinke [4]) ed altri i quali hanno trovato che negli occhi di animali albini al posto dei corpicciuoli colorati si hanno nell' epitelio retinico corpi di eguale specie, ma non colorati. Recentemente Busacca [5]), servendosi del metodo che io adotto per ottenere in uno stesso preparato la depigmentazione e la dimostrazione dei mitocondri, ha trovato che nei granuli del pigmento coroideo si ha uno stroma mitocondriale. Per quante ricerche io abbia fatto, non sono però mai riuscito ad avere identici risultati nel pigmento

---

1) Galeotti. Über die Granulationen in den Zellen. Intern. Monatsschr. Bd. XII. 1895.

2) Fischel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVII. 1896.

3) Leydig (Citato da Reinke).

4) Reinke. Zellstudien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIII. 1894.

5) Busacca: Sulla fine struttura delle coroide. Ricerche fatte nel Laboratorio di Anatomia normale della R. Università di Roma etc. 1912.

retinico. Ciò mi autorizza ad ammettere, per lo meno con grande probabilità, che i condriosomi dell' epitelio pigmentato della retina si trasformano completamente in granuli di pigmento.

Novembre 1912.

Spiegazione delle figure.

Tavola XXIX.

Tutte le figure sono state disegnate per mezzo della camera chiara, da preparati ottenuti col metodo Regaud.

Fig. 1. Cellule dell'epitelio pigmentato. Larva di *Bufo* di mm. 4. Oc. 6 comp. Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 2. id. id. Larva di *Bufo* di mm. 6. Oc. 12 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 3. id. id. Larva di *Bufo* di mm. 17. Oc. 6 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 4. id. id. Larva di *Bufo* di mm. 30. Oc. 6 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 5. id. id. *Bufo*: lungh. cent. 4. Oc. 6 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 6. Cellule dell'epitelio pigmentato. Embrione di pollo di 96 ore. Oc. 12 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 7. id. id. Embrione di ore 120. Oc. 6 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 8. id. id. Embrione di ore 197. Oc. 12 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 9. id. id. Embrione al 17. giorno di incubazione. Oc. 6 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 10. id. id. Pulcino nato da 32 ore. Oc. 6 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 11. id. id. Pollo adulto. Oc. 6 comp. Ob. 1/12 imm.

Fig. 12. Condriosomi in via di divisione. Pollo adulto. Oc. 12 comp. Ob. 1/12 imm.

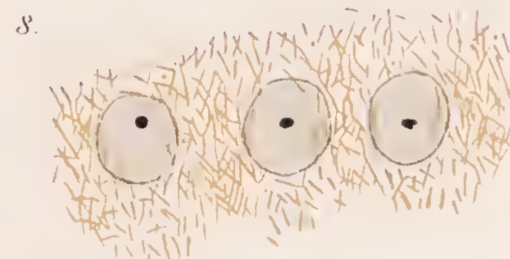
























Luna gez. Verlag v Wilhelm Engelmann in Leipzig Lith Anst. v A Giltsch, Jena

Über den sogenannten inneren Golgischen Netzapparat und sein Verhältnis zu den Mitochondrien, Chromidien und andern Zellstrukturen im Tierreich.

Zusammenfassendes Sammelreferat.

Von

Prof. Dr. Józef Nusbaum
(Lemberg.)

In diesem Sammelreferate werden folgende im Zoologischen Institut der Universität Lemberg 1910—1912 ausgeführten Arbeiten in Betracht gezogen:

1. Dr. Rudolf Weigl. Studya nad aparatem Golgi-Kopscha i trofospongiami Holmgrena w komórkach nerwowych kręgowców. Z. 1 tabl. Archiwum naukowe. T. I. Lwów (Wissenschaftliches Archiv, Bd. I, herausgeg. von Prof. O. Balzer, Lemberg, polnisch). 114 Seiten. 1910.

2. Derselbe. Studien über den Golgi-Kopschschen Apparat und die Trophospongien Holmgrens in den Nervenzellen der Wirbeltiere. Ibidem. Bd. I, Heft VI. 1910. S. 193—203.

3. Derselbe. Über den Golgi-Kopschschen Apparat in den Ganglienzellen der Cephalopoden. Planches XXVII et XXVIII. Extrait du Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie. Classe Math. et Nat. Série B. Sc. Natur. Cracovie. 1910. p. 691—710.

4. Derselbe. O aparacie Golgi-Kopscha komórek nabłonkowych w jelicie kręgowców i stosunku jego do innych struktur. Tabl. 9 (polnisch, Über d. Golgischen Apparat in Darmzellen der Vertebraten). Separatabdruck aus der Festschrift für Prof. J. Nusbaum. Lemberg 1911. S. 267—289.

5. Derselbe. Zur Kenntnis des Golgi-Kopschschen Apparats in den Nervenzellen verschiedener Tiergruppen. Abdruck aus den »Verhandlungen des VIII. Internationalen Zoologen-Kongresses zu Graz«. 1910. S. 589—595.

6. Dr. Rudolf Weigl. Vergleichend-zytologische Untersuchungen über den Golgi-Kopschschen Apparat und dessen Verhältnis zu anderen Strukturen in den somatischen Zellen und Geschlechtszellen verschiedener Tiere. Mit Taf. XV. Extrait du Bulletin de l'Acad. d. Sc. de Cracovie. Classe d. Sc. Math. Nat. Série B. Sc. Nat. Cracovie. 1912. p. 417—447.

7. Gustaw Poluszyński. Untersuchungen über den Golgi-Kopschschen Apparat und einige andere Strukturen in den Ganglienzellen der Crustaceen. Taf. IV. Extrait du Bullet. de l'Acad. d. Sciences. Cracovie. Classe des Sc. Math. Nat. Série B. Sc. Nat. Cracovie. 1911. p. 104—145.

8. Frl. Białkowska Wanda und Frl. Kulikowska Zofia. Über den Golgi-Kopschschen Apparat der Nervenzellen bei den Hirudineen und *Lumbricus*. Mit 1 Tafel und 4 Textfiguren. Anat. Anzeiger. Bd. XXXVIII. Nr. 8 und 9. 1911. S. 193—207.

9. Frl. Białkowska Wanda und Frl. Kulikowska Zofia. Über den feineren Bau der Nervenzellen bei verschiedenen Insekten. Taf. XVI. Extrait du Bull. de l'Académie d. Sciences. Cracovie. Classe des Sc. Math. et Nat. Série B. Sc. Nat. Cracovie. 1912. S. 450—462.

10. Frl. Kulikowska Zofia. O aparacie Golgiego-Kopscha w komórkach nerwowych u owadów. Tabl. 10 (polnisch). Abdruck aus der »Festschrift für Prof. J. Nusbaum«. Lemberg. 1911. S. 291—297.

In meinem Institut wurde in den letzten Jahren eine Reihe von Arbeiten über den sog. »intracellulären Netzapparat« oder Golgischen »apparato reticolare« in den Zellen verschiedener Tiere und verschiedener Gewebe ausgeführt. Da manche diese Arbeiten in, den deutschen Lesern wenig bekannten Zeitschriften und zum Teil auch in einer nicht zugänglichen Sprache veröffentlicht wurden und da andererseits alle diese Arbeiten, in demselben Laboratorium ausgeführt, sich gegenseitig vervollständigen und einen nicht unwichtigen Beitrag zur Kenntnis der erwähnten Zellstrukturen und seiner Verhältnisse zu andren Strukturen darstellen, so meine ich, daß ein kurzes Sammelreferat über alle diese Arbeiten für den weiteren Fortschritt dieser schwierigen Probleme nicht ohne Bedeutung wäre.

Zuerst ist hervorzuheben, daß auf Grund der obigen Arbeiten die Bezeichnung der betreffenden Bildungen als »intracelluläres Golgisches Netz« oder »Netzapparat«, »apparato reticolare interno« endlich vollkommen aufgegeben werden muß, da wir es hier gar nicht immer mit einem »Netz« zu tun haben. Alle angeführten Verfasser nennen deshalb diese Bildungen einfach nur »Golgischer Apparat« oder »Golgi-Kopschscher Apparat«, da durch die Arbeiten von Kopsch (1902) und zwar durch

die Einführung einer äußerst einfachen, zur Darstellung des Apparats dienenden Methode (eine langdauernde Wirkung von reiner 2% Osmiumsäure), eine neue Ära in unserer Kenntnis der betreffenden zuerst von Golgi (1898) entdeckten Strukturen entstanden ist.

Daß der Apparat nicht immer als Netz erscheint, das beweisen vor allem die Arbeiten von Weigl über die Ganglienzellen der Cephalopoden, wo es ihm gelungen ist nachzuweisen, daß die Apparate dieser Zellen nicht als Netze, wie in den Ganglienzellen der Wirbeltiere, sondern vorwiegend als kürzere und längere, gewundene Fäden auftreten, die sich nur spärlich verzweigen und auch selten Verbindungen eingehen.

Noch weniger haben die Apparate etwaige netzförmige Gestalten in den Ganglienzellen der Gastropoden (Weigl), wie auch Crustaceen, wo sie nach den Untersuchungen von Poluscyński lediglich aus kurzen, geraden oder kreisförmig gekrümmten, öfters bis beinahe zu Ringen geschlossenen Fäden bestehen, die im Plasma der ganzen Zelle zerstreut sind. — Ebenfalls zeigen die Apparate in den Ganglienzellen der Insekten keine Netzformen. Nach den Untersuchungen von Kulikowska und von Bialkowska und Kulikowska besteht hier der Apparat nur aus ganz kurzen, oder auch längeren, geschlängelt verlaufenden Fäden, ähnlich wie bei den Gastropoden; aber es gibt auch Formen der Insekten (bei manchen Orthopteren und beim *Dytiscus*), bei welchen die Apparate der Nervenzellen anastomosierende Fäden bilden und somit netzförmige Bildungen darstellen.

Nicht nur in den Ganglienzellen, sondern auch in allen andern Gewebszellen verschiedener Tiere treten die Apparate entweder in Form von Netzen oder in Form von Fäden, Klümpchen und Ringen hervor, wie es aus den Untersuchungen von Weigl hervorgeht, was alles die Unhaltbarkeit der Benennung »Netze« für diese Bildungen beweist; so ist z. B. ohne jeden Zweifel der sog. »Nebenkern« in den männlichen Geschlechtszellen der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*) nichts andres als der Golgische Apparat, wie dies Weigls Untersuchungen nachgewiesen haben und tritt diese Bildung in den Spermatiden bekanntlicherweise keineswegs in Form eines Netzes auf.

Es ist überhaupt interessant, daß die Form des Apparats in keinem Zusammenhange mit dem Verwandtschaftsgrade der verschiedenen Tiere steht. So ist z. B. bei *Helix* der Apparat der Ganglienzellen lediglich in Form von kurzen bakterienförmigen oder gebogenen, ausnahmsweise gewundenen Fäden entwickelt (Weigl). Bei einem andren Gastropoden, *Thetys*, finden wir (Weigl) in den meisten Nervenzellen Apparate der-

selben Form wie bei *Helix*, es finden sich da aber auch Nervenzellen, deren Apparate aus längeren, gewundenen und stellenweise sich netzartig verbindenden Fäden bestehen.

Es gibt aber auch wirbellose Tiere, bei welchen in allen Geweben die Apparate in Form von schönsten Netzen, die an diejenigen der Ganglienzellen der Wirbeltiere erinnern, auftreten. So fanden z. B. Frl. Bialkowska und Kulikowska bei *Lumbricus* und verschiedenen Hirudineen, in allen bisher untersuchten Zellkategorien, insbesondere Ganglienzellen, Epithelzellen, Drüsen und Muskelzellen, sehr schöne netzförmige Apparate.

Wir können also aus allen Untersuchungen, die im Zoologischen Institut der Lemberger Universität äußerst skrupulös ausgeführt wurden, schließen, daß:

1. die Golgi-Kopschschen Apparate in verschiedenster Form im Zellplasma auftreten, als Netze, Fäden, bakterienförmige Bildungen, Ringe usw., weshalb die Benennung »Netze« für alle diesbezüglichen Bildungen unbegründet erscheint;

daß 2. die Form der Apparate bei nahe verwandten Tieren verschieden, und bei Repräsentanten weit entfernter Gruppen ähnlich sich verhalten kann;

daß 3. bei einigen Tiergruppen die Form des Apparats in allen Zellen des Organismus eine gleiche ist (netzförmig z. B. bei Hirudineen und Wirbeltieren), bei gewissen Tiergruppen jedoch der Apparat, sogar im Bereich eines Organismus, in verschiedenen Zellen auch verschieden sein kann (Gastropoden, Crustacea).

Die zweite wichtige Frage wäre die, ob die Apparate allen Zellen eines jeden Organismus eigen sind, ob sie also einen mehr oder weniger allgemeinen Bestandteil der Zellen darstellen, oder nur in gewissen Zellenarten vorkommen? Die lange Reihe von Arbeiten, welche in meinem Institut ausgeführt worden sind, wie auch andre, die sich im Gange befinden, aber noch nicht veröffentlicht wurden (Blutzellen), beweisen, daß in keiner Zellkategorie der verschiedensten Tiere, die bisher in dieser Hinsicht untersucht wurden, der Apparat fehlt. Weigl fand den Apparat außer bei den erwähnten Gruppen (Vertebraten, Arthropoden, Mollusken, Würmer) auch bei Cölenteraten und Echinodermen, was er noch nicht publiziert hat.

Nur bei den Protozoen fanden wir bisher den Apparat nicht, aber ich möchte dazu bemerken, daß in dieser Hinsicht noch keine speziellen Studien in meinem Institut vorgenommen worden sind, so daß die bisherigen negativen Resultate nicht als beweisend gelten können. — Als neu und interessant sei noch erwähnt, daß sich der Apparat auch in den

Neurogliazellen findet (Białkowska und Kulikowska), daß Weigl den Apparat (entgegen den Angaben Golgis) auch in den Belegzellen der Magendrüsen nachweisen konnte. Weiter wurde die Existenz des Apparats in den reifen Spermatozoen von *Cavia* und *Helix* durch Weigl (entgegen den Angaben Sjövalls) sichergestellt, und auch in den völlig ausgewachsenen Ooocyten fand sich der Apparat (Weigl — ebenfalls entgegen Sjövall). — So zieht Weigl mit Recht aus alledem einen wichtigen, allgemeinen Schluß, daß der Apparat einen allgemeinen, jeder lebenden und funktionierenden Zelle des Metazoenkörpers inhärenten und konstanten Zellbestandteil bildet.

Die dritte allgemeine Frage besteht darin, aus welchen Substanzen in mikrochemischer Hinsicht der Apparat aufgebaut ist, ob die den Apparat aufbauende Substanz bei allen Tieren ganz identisch oder ob in dieser Hinsicht gewisse Unterschiede existieren. — Aus allen erwähnten Arbeiten geht hervor, daß der Bau der Apparatsubstanz ein ziemlich komplizierter ist. Weigls sehr genaue vergleichend-cytologische Untersuchungen zeigten, daß wir es im Apparat überall, im großen und ganzen, mit ein und derselben Substanz zu tun haben. Die Hauptkomponente dieser Substanz bildet eine lecithinartige Verbindung, die durch Osmiumsäure konserviert und bei längerer Einwirkung derselben geschwärzt wird. Bei Fixierung der Präparate mit Reagentien, die Lecithin nicht konservieren, z. B. Alkohol, Sublimat, Formol, Trichlormilchsäure, wird die Substanz des Apparats nicht konserviert, sie unterliegt einer Quellung und einem Zerfall, der sich durch sekundäre Osmierung nachweisen läßt. Die Zerfallsprodukte werden durch den Entwässerungsalkohol ausgelaugt und an Stelle des Apparats treten dann oft helle Kanälchen, die bekanntlich von Holmgren gesehen worden sind und als Trophospongienkanälchen beschrieben wurden. Außer der lecithinartigen Substanz finden sich im Apparat konstant noch andere Substanzen, die durch Osmiumsäure nicht geschwärzt werden, sich aber z. B. mit frisch bereitetem Fuchselin intensiv färben lassen. Eine solche Zusammensetzung hat die Substanz des Apparats sowohl bei Vertebraten nach den Untersuchungen von Weigl, wie auch bei Wirbellosen nach den Untersuchungen von Weigl, Poluszyński, Białkowska und Kulikowska.

Bei manchen Wirbellosen weicht jedoch in gewissser Hinsicht die chemische Zusammensetzung der Apparatsubstanz von derjenigen der Vertebraten ab. So zeigte es sich z. B., daß bei den Cephalopoden (Weigl) sich der Apparat nach kurzer Osmiumfixierung auch mittels gewöhnlicher Färbungen, z. B. Eisenhämatoxylin, Gentianaviolett leicht färben läßt, was bei den Wirbeltieren nur ausnahmsweise vorkommt. In Nervenzellen

der Crustaceen (Poluszyński) und Insekten (Kulikowska und Bialkowska) läßt sich der Apparat nicht nur nach Osmiumgemischfixierung, sondern schon beinahe nach jeder Fixierungsart mit Eisenhämatoxylin, Gentianaviolett färben. Dasselbe fand z. B. Weigl in den schönen, stark ausgebildeten Apparaten der Geschlechtszellen der Gastropoden wie auch in denen der Insekten.

Ein folgendes, äußerst wichtiges Problem ist das Verhältnis des Golgi-Apparats zu den Mitochondrien.

Bekanntlicherweise haben viele neuere Autoren den Apparat mit den Mitochondrien wie auch den »Chromidien« verwechselt, indem sie Bestandteile des Apparats entweder als Mitochondrien oder als »Chromidien« fälschlich gedeutet haben. Das konnte aber nur bei denjenigen Forschern zutreffen, die den Apparat in seinen typischen Formen nicht aus eignen Untersuchungen kennen gelernt haben, und denen die elektiven Methoden zum Studium des Apparats nicht genug geläufig sind. Ich rate auch einem jeden Forscher, der sich mit plasmatischen Zellstrukturen, insbesondere mit den Mitochondrien, Chromidien beschäftigt, die Methoden der Erforschung des Apparats genau kennen zu lernen, wodurch sehr viele Fehler vermieden werden können. Bei Wirbeltieren, besonders in den somatischen Zellen, ist die Verwechslung der Mitochondrien mit dem Golgi-Apparat allerdings ausgeschlossen. Zwar fehlt es besonders in mangelhaft konserviertem Material, z. B. im Epithel des Nebenhodens, nicht an Stellen, die uns einen stufenweisen Übergang vom Apparat zu den Mitochondrien vortäuschen könnten; eine Verwechslung beider Strukturen ist jedoch nur auf Kritiklosigkeit und auf Unkenntnis dieser Strukturen und der speziellen Methoden zurückzuführen. — Schwieriger ist es schon, beide Strukturen in den Keimzellen der niedren Wirbeltiere und Gastropoden, besonders während der Umwandlungen derselben zu unterscheiden, und hier wurden auch schon des öfteren fehlerhafte Schlüsse gezogen. Besonders während der Teilungen der Keimzellen, wo Umwandlungen sowohl im Mitochondrial- wie auch im Golgischen Apparat vor sich gehen, ist für den nicht genug Geübten eine Verwechslung beider Strukturen nicht ausgeschlossen. Aber die Methoden für die Darstellung des Apparats und die Bendasche Methode der Mitochondrienfärbung zeigen in diesen Fällen eine solche Elektivität, daß sie an gelungenen Präparaten (Weigl) diese Gebilde nicht nur färberisch verschieden darstellen, sondern die andre Bildung ganz ungefärbt lassen können.

Am schwierigsten fällt es nach Weigls Untersuchungen, in den Geschlechtszellen der Insekten die Golgischen Apparate von den mito-

chondrialen Bildungen zu unterscheiden. Bei allen von WEIGL untersuchten Insektenformen (*Apis*, *Dytiscus*, Schmetterlingslarven) fand er in den Geschlechtszellen einen Apparat, der lediglich aus kurzen oder längeren, dem Anschein nach vorwiegend steifen Fädchen besteht. Diese Fäden konservieren sich nun gut in den zur Mitochondriendarstellung geeigneten Reagentien, z. B. in Sublimat + Osmiumsäure, FLEMMINGsche und ALTMANNsche Flüssigkeit, und lassen sich dann auch nach beinahe allen Methoden färben, treten also des öfteren gleichzeitig mit den Mitochondrien in einem Präparat auf. Es haben auch alle Autoren, die sich mit dem Studium der Spermatogenese der Insekten beschäftigen, den Apparat nicht als diesen erkannt, sondern denselben den Mitochondrien zugerechnet. Daß aber auch hier der Apparat und die Mitochondrien ganz verschiedene Bildungen darstellen, das beweist nach WEIGL unter anderem der Umstand, daß das Endresultat, dem der Apparat bei der Umformung der Spermatide unterliegt, ein anderes ist, als das der Mitochondrien. »Während z. B. die Mitochondrien dieser Zellen sämtlich zur Bildung des Mitochondrialkörpers (typischer Nebenkern) beitragen und in ihm aufgehen, nimmt der Apparat — also die ihn repräsentierenden Stäbchen — keinen Anteil an seinem Aufbau und geht auch keinerlei Beziehungen mit ihm ein.«

Wir erwähnten oben, daß nach WEIGLS Untersuchungen selbst in den ganz typischen GOLGIschen Netzen, wie sie z. B. in den Ganglienzellen der Vertebraten auftreten, außer den lecithinartigen Substanzen, die die Hauptmasse des Apparats bilden, auch andere Substanzen, die sich z. B. mit Fuchselin färben lassen, auftreten. Nun ist es sehr wahrscheinlich, daß in den zuletzt erwähnten Fällen, z. B. in den Geschlechtszellen der Insekten, eben die lecithinartige Substanz durch die stärker entwickelte andere Substanz verdrängt wird, weshalb die typischen mikrochemischen Eigenschaften des Apparats hier eben eingebüßt werden. Das Endresultat der äußerst sorgfältigen Untersuchungen WEIGLS, dessen alle sehr schönen und präzisen Präparate von mir durchgesehen worden sind, überzeugt diesen Verfasser, womit jeder, der seine Präparate gesehen hat, ihm zustimmen muß, daß die GOLGIschen Apparate und die Mitochondrien streng voneinander getrennte Zellstrukturen darstellen. — Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß die beiden Strukturen phylogenetisch oder auch ontogenetisch zusammenhingen.

Es entstehen ja z. B. (den Angaben der Autoren gemäß) die Muskel- und Nervenfibrillen aus ursprünglich gleich aussehenden Mitochondrien und Chondriomiten, obwohl sie dann im fertigen Organismus nichts mit-

einander Gemeinsames haben. So könnten ja auch der Golgische Apparat und die Mitochondrien, trotzdem sie in den Geschlechtszellen des fertigen Organismus ganz differente und unabhängige Bildungen darstellen, einen gemeinsamen Ursprung haben oder aus einer Quelle entstehen.

Weigl kommt weiter auf Grund seiner sehr zahlreichen und äußerst verschiedenartigen Präparate zum Schlusse, daß die Golgischen Apparate noch vor der Entdeckung von Golgi, des »Apparato reticolare«, in den Ganglienzellen der Wirbeltiere, von verschiedenen Forschern in andern Zellen, speziell in Geschlechtszellen gesehen und abgebildet wurden, obwohl die wahre Natur dieser Bildungen diesen Autoren verborgen blieb. Es unterliegt keinem Zweifel, daß der Golgische Apparat der Geschlechtszellen mit den »Pseudochromosomen«, »Zentralkapseln«, »Archoplasmaschleifen« identisch und homolog ist und auch denjenigen »Nebenkernen« der Wirbellosen vollkommen entspricht, die keine Mitochondrienkörper sind, z. B. denen von *Helix*, und dann auch einen ziemlich beträchtlichen peripheren Teil des »Idiosoms« ausmacht. Er ist aber nicht zu verwechseln mit den kolossalen Dotterkernen und Mitochondrienkörpern (typischen Nebenkernen) der Wirbellosen.

Ganz besonders ist es aber wichtig, daß die Untersuchungen Weigls eine vollkommene Unzulänglichkeit der Ansicht derjenigen Autoren beweisen, die die Golgischen Bildungen mit den »Chromidien« verwechselt haben, oder richtiger gesagt, die ersten von den letzteren nicht zu unterscheiden vermochten. Weigls Untersuchungen zeigen, daß die so viel bestrittenen »Chromidien« in den Geschlechtszellen in gewissen Stadien der Ovo- und Spermatogenese sich, die Zentralkörper nicht gerechnet, aus nicht weniger als drei verschiedenen Komponenten aufbauen, und zwar den Mitochondrien, den eigentlichen Chromidien und dem gewöhnlich typisch ausgebildeten Golgi-Apparat. Weigl erwähnt bei einer Gelegenheit der schönen Untersuchungen Jörgensens bei *Proteus*; er erhielt ganz ähnliche Präparate wie Jörgensen, aber auf allen seinen Präparaten sowohl bei *Proteus*, wie auch bei andern Wirbeltieren und Wirbellosen, z. B. Gastropoden, konnte Weigl mit den elektiven Methoden den Golgi-Apparat, der da den netzförmigen Chromidien Jörgensens entspricht, rein darstellen. Zur Widerlegung der Ansicht Jörgensens, des Entstehens der Chromidien (Apparat) aus den Chromosomen im Bukettstadium, genügt schon der Hinweis auf die leicht zu konstatierende Tatsache, daß der Apparat schon lange vor dem Bukettstadium vorhanden ist.

Eine besonders wichtige und interessante Entdeckung WEIGLS besteht darin, daß der Apparat sich nicht nur während der ganzen Spermatogenese und Ovogenese verfolgen, sondern sich auch in ganz ausgebildeten Spermatozoen, z. B. bei *Cavia cobaya* und *Helix* nachweisen läßt, wie es in den Abbildungen und schönen Mikrophotogrammen seiner Präparate zu sehen ist.

Ich muß dabei bemerken, daß in reifen Spermien auch Dr. J. HIRSCHLER in meinem Institut neulich den GOLGIschen Apparat auch bei *Ascaris* gefunden hat, worüber in diesem Archiv eine Arbeit erschien.

Endlich muß ich besonders hervorheben, daß alle im hiesigen Zoologischen Institut ausgeführten, oben zitierten Arbeiten von WEIGL, POLUSZYŃSKI, BIAŁKOWSKA und KULIKOWSKA die Unzulänglichkeit der Ansicht HOLMGRENS über die exogene Natur des Apparats, welchen er als »Trophospongien« bezeichnet, wie auch die Unzulänglichkeit der Theorie BERGENS, daß wir es hier mit einem Ernährungsapparat mit typisch sich wiederholenden Entstehungs- und Schwundbildern zu tun haben, ganz einwandfrei beweisen. Diese Untersuchungen, besonders diejenigen von WEIGL und POLUSZYŃSKI, zeigten nämlich, daß die Entstehungs- und Schwundbilder BERGENS nur der Ausdruck ungleichmäßiger Wirkungen verschieden starker Konzentrationsgrade der angewandten Osmiumsäurelösungen sind, womit diese Verfasser mit SJÖVALL im Einklange sind. Sowohl WEIGL wie auch POLUSZYŃSKI, BIAŁKOWSKA und KULIKOWSKA fanden die echten HOLMGRENschen Trophospongien, das heißt Einwüchse der Neuroglien in die Ganglienzellen, welche aber nichts Gemeinsames mit dem GOLGI-Apparat besitzen, wobei nur gegenseitige Berührungen beider Bildungen einen wirklichen Zusammenhang dieser ganz verschiedenartigen Strukturen vortäuschen können.

The Origin and Development of the Apothecium in Collema pulposum (Bernh.) Ach.

By

Freda M. Bachmann.

With plates XXX to XXXVI.

In their studies of various lichens, Stahl, Borzi, Sturgis, Darbishire and Baur found the spermatia to function as male cells; yet in spite of the positive evidence supplied by these authors, fully as many others have continually denied the sexual nature of the spermatia. Those who have chosen to regard the cells in question in some of the pyrenomycetes and in the rusts as male cells, have based their conclusions either largely or entirely on the very apparent cytological resemblance to male cells in other plants and to the complete inability, or much reduced power of these cells to germinate. Beside the question as to the nature of the spermatia, there is also the interesting problem of nuclear behavior in the fertilization of such a multicellular female organ as is commonly found in many pyrenomycetes and the lichens. With these questions in mind and with a view to throwing light on the problems involved, I have undertaken further studies on the lichens, among which the Collemaceae have thus far proved most favorable for my work.

In a former paper (1) as a necessary introduction to a morphological description of the reproductive structures in *Collema pulposum*, I gave a very short historical sketch of some of the more important literature bearing on the development of the apothecium in lichens. In the present paper I shall attempt to give a more complete review of the work done up to the present time, also a more complete account of the results of my own studies.

Historical Sketch.

What Tulasne has called the spermogonia of lichens were, according to Tulasne (81) and Lindsay (59), first discovered and figured by Hedwig in *Anaptychia ciliaris.* Along with the soredia of some lichens, Hedwig considered these to be male organs and writes of them as "punctula mascula" or "flores masculi". Shortly after this they came to be considered by some of the students of the time as parasitic fungi on the thallus of the lichen. Flotow (31) in 1850 described the "parasite" on *Arthonia fuliginosa* and placed it in the genus *Pyrenothea.* The fruit body he (31) described as a perithecium without asci or paraphyses and containing only atom-like sporidia. Fries (39) had also thought these spermogonia to be aborted apothecia. Itzigsohn (53) held to the older idea of Hedwig. He believed that the spermatia were motile and similar to the male cells of *Polytrichum* and *Marchantia*, hence he called them spermatozoids, and the spermogonia, antheridia. A few months later, in a second paper, he (54) confirmed his earlier observations but added that Rabenhorst and Kützing had written him of their failure to see any movement of these small cells. He also noted that Flotow had observed a movement of the cells, but, finding the same in material which had been in the herbarium for twenty years, had concluded that it was only a molecular movement. A year later, in a letter to Itzigsohn (55), Rabenhorst wrote that he saw such a movement as had been described by the former.

Tulasne (81) failing to see any resemblance between these flask-shaped filamentous structures in lichens on the one hand and the antheridia of mosses and hepatics on the other, and not finding their contents motile, proposed to call them spermogonia and the small cells produced in them and set free through their ostioles, spermatia. He gave excellent figures of the spermogonia and spermatia in about fifty different species of lichens. He found that the size and shape of the spermatia vary as between the different species, but in every case he found them borne on specialized hyphae, the spermatiophores, in pocketlike depressions in the thallus, the spermogonia, and finally extruded through the ostiole of the spermogonium onto the surface of the thallus. In a later paper (82), and in his Selecta Fungorum Carpologia (83) he has shown that there are several kinds of reproductive bodies in the ascomycetes — endospores, stylospores, spermatia, and conidia. Of these, the stylospores and spermatia are borne in special cup-shaped structures, the pycnidia and the spermogonia. According to Tulasne, spermatia

differ from these other reproductive bodies in that they will not germinate. He believed the spermatia to be male cells and the asci, female cells.

A very extensive work by LINDSAY (59) on the spermogonia and pycnidia of lichens appeared in 1859. This work has been criticized by GLÜCK (43) as more extensive than exact. In his first paper LINDSAY described and figured the spermogonia as to form, position, color, size, number and structure. His distinction between spermogonia and pycnidia is "one of convenience — one depending on the difference in character of the contained corpuscles, — not one as yet founded on essential differences in function." The contents of the pycnidia, the stylospores, differ as LINDSAY sees them from spermatia in their larger size and fewer number. He has described the spermogonia in twelve species of *Collema*. In this genus he finds them always immersed in the tissue of the thallus and more or less inconspicuous unless the thallus is moistened. They are brownish or yellowish and either distributed on the surface of the thallus or on its margin. In *Collema pulposum* Ach. he described the edge of the thallus as well as the exciple of the apothecium as "sometimes studded over with conspicuous ragged, deep perforations, which are the ostioles of old spermogones". In *Collema crispum* Ach. the spermogones are described as in *C. pulposum*. In *C. pulposum* var. *tenax*, the spermogonia are tubercles of the same color as the thallus and scattered upon the edges of the lobes.

NYLANDER (71) made much the same distinction between stylospores and spermatia. According to this author, the stylospores differ from the spermatia in the greater thickness of the "basidia", which are always simple, in their fewer number, larger size, oily content, and power of germination. NYLANDER found in the structure of the spermogonium, and in the size and shape of the spermatia, characters which served him as a basis for classification.

TULASNE's distinction between spermatia and stylospores of conidia had remained without being seriously questioned for a number of years. The subject was again taken up by CORNU (21) and his studies led him to conclude quite differently from TULASNE. By using a nutritive solution probably similar to that which surrounds the spermatia in their natural substratum, or in some cases by using only water, CORNU succeeded in germinating the spermatia of a considerable number of ascomycetes. His experiments on the lichens *Borrera ciliaris* and *Parmelia acetabulum* gave only negative results. To explain this failure, CORNU points out that there is an added difficulty in the study of lichen spermatia in that in other ascomycetes the spermogonia disappear after the spermatia are

produced while in the lichens this is not the case. It would be necessary to secure recently produced spermogonia and at the same time those containing mature spermatia. Cornu observed that the first indication of germination in many spermatia, and especially in those which are somewhat curved, is a swelling of the cell so that it becomes ovoid. The spermatia then are cells which have lost a considerable amount of water in their formation. Cornu continued to use the word "spermatium", but would have it apply only to very small asexual reproductive cells which, because of their small size, can easily be carried long distances. Another characteristic difference between stylospores and spermatia as Cornu sees them, is in the wall — the former have a double spore membrane. He says they are "conidies chlamydées". What Tulasne designated as conidia, those spores borne freely on the surface and not in special receptacles, Cornu divided into spermatia and stylospores according to their size. According to this author then there are in a number of genera two kinds of asexual spores other than ascospores — stylospores and spermatia, and the latter because of their ability to germinate can in no case be considered male cells.

How long the old idea that pycnidia and spermogonia are parasites on other fungi persisted, is shown by the fact that Bauke (2) in 1876 after making a study of the pycnidia in several ascomycetes, thought it necessary to point out that his work had proved that these structures are not distinct fungi, but that pycnidia were obtained on a mycelium originating from ascospores. Bauke also suggested in this paper that since there is so little difference in the external appearence of stylospores and spermatia, it might be possible that Tulasne had occasionally described pycnidia for spermogonia or the reverse.

It is evident that the role of the spermatia in the life history of the ascomycetes in which they occur still remained a question. Several writers had guessed that they might be male cells, but nothing had been proved. Stahl (74) was the first to recognize the true female reproductive organ in the lichens and to determine at least for this group the real function of the spermatia. In the gelatinous lichens which he investigated, *Collema microphyllum* and *C. pulposum*, *Physma compactum*, *Synechoblastus conglomeratus*, *Leptogium hildenbrandtii* and *L. microscopicum*, Stahl found the earliest stages of apothecial development to consist of a tangle of hyphae surrounding a spirally wound septate hypha which arises as a branch from a vegetative hypha near the center of the thallus. This distal end of the coil is prolonged into a more or less straight filament which grows toward the upper surface of the thallus and protrudes

somewhat above this. Following De Bary (27), Stahl called this entire structure a carpogone, the coiled basal portion he called the ascogone, and the long terminal filament the trichogyne, a name which had originally been given by Bornet and Thuret (12) to a similar structure in the red algae. Stahl apparently made a very careful study of his preparations and has given quite a detailed account of his observations. In *Collema microphyllum* the ascogone consists of two and one half to three coils, and of a varying number of cells averaging twelve. The trichogyne cells are narrower than those of the ascogone, of different lengths, and vary in number with the length of the trichogyne. The end cell of the trichogyne, which projects somewhat above the surface of the thallus, is covered with a sticky substance, to which the spermatia as well as particles of foreign material adhere. The small rodlike spermatia, the ends of which are somewhat thickened, are extruded in large numbers from the neck of the spermogonium in which they are borne and are probably spread over the surface of the thallus by means of rain-drops. Stahl finds that the spermatia become attached very firmly to the trichogyne so that neither water nor a jarring of the cover glass will detach them. He has figured three cases in which the wall has been dissolved between the spermatium and the trichogyne, resulting in a continuity of the protoplasm of the two cells. After this fusion, the cross walls of the trichogyne become much thickened in the direction of the longitudinal axis of the filament. The content of these cells is now brown and in marked contrast to the thick, pale swellings of the cross walls. The cells of the ascogone now grow and become more numerous. This makes a sharp line of demarcation between trichogyne and ascogone. For a time the ascogone is not branched. The tangle of hyphae surrounding it becomes denser and from this extend many upright parallel filaments which form the Anlage of the hymenium. The proper exciple is pseudoparenchymatous and arises from filaments resembling paraphyses. From the ascogone, as Janczewski (56) had described for *Ascobolus* and Kihlman (57) for *Pyronema*, come the ascogenous hyphae. These are septate and their cells vary greatly in width and length. Often the same cell is much swollen at one end and drawn out to a filamentous structure at the other end. The asci arise as outgrowths from the ascogenous hyphae.

In the other species of *Collema* which he investigated, Stahl found a great similarity in the development of the apothecium to that described for *C. microphyllum*. In *Synechoblastus*, he found the ascogone not a regular spiral, but made up of irregular windings. In *Physma compactum*

the empty spermogonium becomes the apothecium. The ascogones, which are more or less winding but not spiral, are in the base of the spermogonium, and the trichogynes grow from here to the surface of the thallus around the spermogonium. As in *Collema*, the limit of trichogyne and ascogone is sharply defined. The thickening of the cross walls is confined to that part of the carpogone which is outside of the base of the spermogonium. The changes in the trichogyne cross walls begin at the distal end of this structure, which to Stahl suggests that the thickening is due to the chemical effects of substances moving through the cells and downward — evidence of the sexuality of these species. The spermatia are mature and are extruded at about the time the trichogynes are mature, so that the latter are always found with numerous spermatia attached. After the spermatia are extruded, the asci and paraphyses grow upward and fill the old spermogonium. In *Collema* there is but one carpogone for each apothecium, in *Physma* there are always more than one. The size of the apothecium is not correspondingly larger in the latter as might be expected. In *Collema* the exciple and hypothecium arise after fertilization. That the spermatia are the male cells of lichens and that we have in spermatia, trichogyne and carpogone a genuine functional sexual apparatus seems to have been conclusively demonstrated by Stahl's work, in spite of the attempts of Brefeld, Möller and others who see no evidence of sexuality in the ascomycetes to weaken the evidence.

Four years after the appearance of Stahl's paper, Krabbe (58) described a vegetative origin for the fruit body in several lichens. According to Krabbe's observations the ascogenous hyphae in several species of lichens of different genera originate in vegetative hyphae but become differentiated so that asci are borne at or near the ends. There is no difference in origin between the hyphae giving rise to the asci and to those giving rise to the paraphyses, although the ascogenous hyphae are not developed until the formation of paraphyses is begun. In *Sphyridium carneum* what Krabbe believes are ascogenous hyphae are formed but no asci are produced. He suggests that this species reproduces only by means of soredia. Spermogonia are never or at least seldom produced. In *Cladonia papillaria* Ehr. a bunch of paraphyses may grow upward from the center of the apothecium and thus form a secondary fruit body from which again in the same way a third may be formed. The hymenium of the primary apothecium ceases to develop and the paraphyses branch and form a weft of tissue which covers the asci. With the exception of a few asci that may or may not be carried upward by the growth of the paraphyses to form the secondary apothecium, the tissue of the young

shoot is homogeneous. Hence KRABBE reasons that either the ascogenous hyphae grow out as vegetative hyphae into this new shoot, later to assume their typical form again, or else they are formed anew with each hymenium. KRABBE does not regard these outgrowths as exceptional or abnormal. In *Lecidea pilati* Hepp., KRABBE finds a similar formation of secondary apothecia. In *Pertusaria communis* and *P. leioplaca* D. C. et Ach., secondary apothecia are developed from the periphery of the primary apothecium by an active branching and growing out of the tissue forming the paraphyses. In this case the ascogenous hyphae come from the primary apothecium. The number of apothecia may also be increased by a division of the primary apothecium. Such a division is the result of walls of tissue developed by a branching of the tissue forming the paraphyses. KRABBE has described still another method of the formation of secondary apothecia in *Phlyctis agelaea* Ach. In this species he admits the possibility of sexuality, since from the first the hyphae giving rise to asci and those giving rise to paraphyses are distinct. The secondary apothecium here is developed from the hypothecium and by its growth either carries the old apothecium further up or grows through the middle of it.

A year later, in a second paper, KRABBE (58a) concluded from a study of several species of *Cladonia* that the podetium of this genus is not to be considered a part of the thallus of the lichen but rather a part of the reproductive shoot, since, with the apothecia and spermogonia borne on it, the podetium forms the real fruit body. Again he says vegetative hyphae are gradually transformed into ascogenous hyphae and these again may revert to the vegetative condition. In *Cladonia stellata* even the asci may grow into vegetative hyphae in case no spores have been formed. Since the apothecia develop in a purely vegetative manner, KRABBE regards the spermatia as asexual conidia.

FÜNFSTÜCK (40) in 1884 described a vegetative origin for the fruit body in the genera Peltigera, Peltidea, and Nephroma. In Peltigera, he found nothing to suggest a male organ, and the female organ rudimentary. The latter arises from a vegetative hypha and has no trichogyne. It is made up of several large, thin-walled cells which are necklace-like, but as growth continues they may become separated because of increased turgor. The transformation of a thallus hypha into an ascogone is very gradual; the cells enlarge and the content changes so that it is not possible to say exactly where the ascogone begins. FÜNFSTÜCK says it seems possible that every hypha in this region may become an ascogone. He found no spermatia in the genera Peltigera and

Peltidea and suggested that what TULASNE, LINDSAY, and NYLANDER had described as spermogonia or pycnidia are young stages in apothecial development, and that LINDSAY's "sporoid corpuscles" in *Peltigera canina* are the cells of the ascogone which in this species are all separate. The ascogenous hyphae come from the cells of the ascogone, which then become disorganized and later disappear.

In *Nephroma tomentosum* and *N. laevigatum*, FÜNFSTÜCK found spermogonia, but since the apothecia at the time the ascogenous hyphae are formed are still enclosed in a thick cortex, he thought it not possible for a spermatium to enter. Irregular necklace-like chains of thin-walled spherical cells similar to the ascogone cells of *Peltigera* he thought to be the ascogone. The formation of ascogenous hyphae was not observed, but upon their appearance the ascogone cells disappear. In this genus both sex organs are present but non-functional. Since there is no trichogyne the female organ has degenerated and the spermatia do not mature.

In a later paper FÜNFSTÜCK (41) says that spermogonia do sometimes occur in *Peltigera rufescens* and that he found them once in *P. canina* but never in *P. malacea.*

From what has been said of the work of TULASNE and CORNU, it is evident that aside from STAHL's discovery of the fusion of spermatium and trichogyne, the spermatia of lichens were supposed to be male cells because all attempts to secure germination had resulted in failure. In 1887, MÖLLER (69) succeeded in germinating the spermatia of *Buellia punctiformis* Hoff., *Opegrapha subsiderella* Nyl., *O. atra* Pers., *Calicium parietinum* Ach. and *C. trachelinum* Ach. He also succeeded with what he thought were the spermatia of an *Arthonia.* In some cases the rudimentary thalli developed to a breadth of 2 mm. and 0,75 mm. in thickness. His experiments were not carried out under natural conditions. The spermatia were placed in nutrient solutions, under conditions especially favorable for their development. MÖLLER thought the results of his experiments conclusive evidence of the asexual nature of lichen spermatia.

FORSSEL (33) reported the development of the apothecium from the spermogonium in *Pyrenopsis impolita* (Th. Fr.) and *Psorotichia leprosa* Anz., but saw no trichogynes. He also thought he observed the same phenomenon in *Psorotichia* (?) *Rhemii* Mass. and *P.* (?) *lugubris* Mass. In *Pyrenopsis phoeococca* Tuck. he found carpogones and trichogynes in the base of the spermogonium. In *Psorotichia quinquetubera* (Del.), *P.* (?) *fuliginascens* (Nyl.), *Pyrenopsidium furfureum* (Nyl.), *Anema decipiens* (Mass.), *A. notarisii* (Mass.), *A. nummularium* (Dur. et Mont.), *Ompha-*

laria Heppii Mull. Arg., and *O. leptophylla* Tuck., he found no trace of carpogones or trichogynes and thought that the apothecia develop in a purely vegetative manner. From FORSSEL's work it appears that even in the same genus the apothecia develop differently. Spermogonia are found in abundance in the gleolichens.

Along with the sexual nature of lichen spermatia, the distinct origin of ascogenous hyphae from those giving rise to paraphyses continued to be a much disputed question. Hoping to get further evidence as to the origin of these two systems of hyphae and also to get more light upon the development of the apothecia, LINDAU (60) investigated a number of species in several genera of lichens. In all these forms — *Anaptychia ciliaris* Krb., *Ramalina fraxinea* Fr., *Physcia stellaris* Nyl., *P. pulverulenta* Nyl., *Parmelia tiliaceae* Hoffm., *Xanthoria parietina* Fr., *Placodium saxicolum* Krb., *Lecanora subfusca* Ach., and *Lecidella enteroleuca* Krb. — he found asci and paraphyses to have a distinct origin and observed a development of the apothecium similar to that described by STAHL for *Collema*. In *Anaptychia ciliaris*, many of the ends of the hyphae in the cortex, as well as the trichogynes, protrude from the surface of the thallus. Spermatia are attached to both; they can be easily separated by jar or otherwise from the cortical hyphae but not from the trichogynes. However, LINDAU saw no fusion with the trichogyne and no later shriveling of this organ nor gelatinization of its walls. Yet no trace of trichogynes was found in old apothecia. In *Ramalina fraxinea* the ascogones are branched, but he did not observe whether each branch ends in a trichogyne. In *Placodium saxicolum* the ascogones are simple or branched. Here the branching is usually from the vegetative hyphae and each fork functions as a single ascogone. In *Lecanora subfusca* there is a branching of the trichogyne so that a single ascogone has two trichogynes. In *Lecidella* there is a division of an apothecium into a number of smaller ones which is very similar to the production of secondary apothecia described by KRABBE for *Pertusaria leioplaca*. As to the nature and function of trichogynes and spermatia, LINDAU concluded nothing.

STURGIS (76) in 1889 reported a vegetative origin for the apothecium in *Sticta anthraspis* Ach., *S. amplissima*, *Nephroma tomentosum* (Hoffm.) Krb., *Peltigera polydactyla* (Neck.) Hoffm., *Heppia despreauxii* (Mont.) Tuck., *Pannaria molybdia* (Pers.) Tuck., *P. rubiginosa* (Thunb.) Delis. and *Hydrothyria venosa* Russ. In these species STURGIS believes that asci and paraphyses arise from the same system of hyphae. For the Collemaceae which he investigated, *Physma mülleri* Hepp., *P. compactum* Mass., *Collema pulposum* Ach., *C. nigrescens* (Huds.) Ach., and *Leptogium*

myochroum (Ehrb.) Tuck., his results are entirely confirmatory of Stahl's. In *Physma compactum* he failed to get early enough stages to show a spermogonium transformed into an apothecium, but in *P. mülleri* he found traces of sterigmata projecting from the sides of the upper part of the apothecium.

Glück (43) made a comparative study of the structure and content of spermogonia in a large number of lichens. He was able to group all those studied into eight distinct types as to the characters of the basal cells, the sterigmata and the spermatia. In the simplest type, a basal cell produces a single sterigma bearing a rather large, broad spermatium. In the more complex types the basal cells form chains, then anastomose, and finally form a tissue. In the most complex types the sterigmata may be reduced to mere papillae on the basal cells so that the spermatia appear to be formed directly from the basal cells.

Wainio (85) noted the production of ascogones with trichogynes in *Usnea laevis*, *Sphaerophoropsis stereocauloides* Wainio, *Coccocarpa pellita* (Ach.), *Pseudopyrenula* sp., and a number of Cladonias. He called attention to the fact that in many lichens the prolongation of the ascogone, the trichogyne, extends upward beyond the surface of the thallus, but in some species (the asexual *Peltigeras* and *Peltideas* described by Fünfstück) these prolongations are entirely enclosed within the thallus. He thought that the latter condition must exclude all possibility of fertilization by the spermatia, and the fact that the trichogyne is a septate organ would argue against its being a fertilizing organ. He considered the ascogones nutrition reservoirs for later spore formation and proposed the question whether the trichogynes are not accidental elongations of the ascogone which, because of the accumulation of nutritive material in the ascogone, develope with greater vigor than the other parts of the apothecium.

A few years later, in a second paper (86), Wainio described ascogones with trichogynes in several Cladonias. The trichogynes were occasionally in bundles. He was able to determine that the paraphyses are branches from vegetative hyphae and that the asci come from branches of the ascogone. However, some branches from the ascogone he thought to be sterile and to resemble paraphyses. Following Möller, he called the spermatia pycnoconidia.

Baur's (3) results from a study of *Collema crispum* Ach. are very similar to those of Stahl. He found two kinds of thalli — those in which the lobes of the thallus are very well developed and produce only a few large apothecia or none whatever, and those with lobes poorly

developed but bearing many apothecia. Since in the former carpogones are abundant, BAUR attributed the failure to produce apothecia to the absence of spermogonia, which are always to be found on those thalli producing apothecia or on thalli in close proximity to these. The cross walls of the carpogone are not punctured, but like those of the vegetative hyphae usually show an easily recognizable pit. The cells of the young carpogone are uninucleate. In four cases BAUR succeeded in tracing the trichogyne to the tip, and here he found that the spermatium which had fused with the trichogyne was empty. Because of the small size of the spermatia, he was not able to see a continuity of cell contents of trichogyne and spermatium. Spermatia were always found on the trichogynes of those carpogones which developed further and never on those which disintegrated. After fertilization, deeply staining bodies in the trichogyne cells are probably the remains of the disintegrating nuclei. The cross walls of the lower trichogyne cells are less swollen and plainly punctured. In a number of cases he believed the original cross walls of the ascogone to be punctured. Those walls which are formed later he found to be entire. The number of ascogone cells is increased by intercalary growth and later the ascogenous hyphae branch from these cells. The cells of the ascogenous hyphae are uninucleate. The paraphyses branch from the basal cells of the carpogone; the cross walls of these cells are not perforated.

In 1899, LINDAU (61), from a study of *Gyrophora cylindrica*, came to the conclusion that the function of the trichogyne in lichens is merely that of a boring organ to break a way through the cortex. He believed that the trichogynes are increased in number until they form a mass of parallel erect filaments. He proposed the name "terebrators" or "terebrator hyphae" for the numerous trichogynes.

DARBISHIRE (25) described in some detail the development of the apothecium in *Physcia.* He described all the cells of the carpogone as connected by a slender but easily recognizable plasma thread. Because of the narrowness of the spermatium, he could not be certain of a connection between this and the trichogyne. In every case in which the carpogone had ceased to develop or had returned to a vegetative condition, the trichogyne bore no spermatia. After fertilization the cells of the coil become connected by broad plasma strands, so that they come to form practically a multinucleate single cell in each swelling of which is a nucleus. From these swellings, — the original cells of the carpogone — branched cells grow out, the end branches of which are the asci. It appears that after fertilization no more cross walls are formed in the

ascogone. The basal cells of the coil, which give rise to paraphyses, Darbishire terms the "paraphysogone".

Wahlberg (84) in 1901, not convinced that asci and paraphyses arise from distinct hyphal systems, made a study of the development of the apothecium in several species of *Anaptychia* and *Physcia*. In *Anaptychia ciliaris* he found hyphal coils both with and without trichogynes. By merely treating the material with potassium hydroxide and chloriodide of zinc and then crushing it he thought he succeeded in demonstrating that asci and paraphyses have a common origin. He was unable to determine the significance of the trichogynes but thought it probable that they form some of the paraphyses.

Bitter (8) noted the production of spermogonia in a number of species of *Parmelia*. In some of these species, although many spermogonia are produced, only an occasional apothecium develops. From this fact the author concludes that at least in this group the spermatia function as asexual conidia. However, he did not think that this fact weakens the probability of their sexual nature in other lichens; he thought rather that they may be either asexual conidia or male gametes according to conditions. In *Parmelia obscurata* (Ach.) he found numerous early stages of apothecial development with their trichogynes. In one form of this species, which he calls "glauca", numerous and large apothecia are developed; in another, which he calls "obscura", the apothecia are scarcer and smaller. Since spermogonia are seldom found, he concludes that the trichogynes are probably not fertilized by the spermatia, but that they develop independently of the latter.

In a second paper, Baur (4) described the early stages of apothecial development in several lichens of different families. In each species the ascogenous hyphae were found to originate from typical carpogones. In *Parmelia acetabulum* he found many more carpogones produced than apothecia. Between the apothecia may be found groups of disintegrated carpogones of which nothing is left but the sheath. Since this species produces numerous spermogonia the ostioles of which are between the trichogyne tips, it appears, as Baur says, either that cross fertilization is necessary or else that the spermatia have nothing to do with the further development of the carpogone. In *Pertusaria communis* D. C. in which Krabbe had found no indication of sexuality nor an independent origin of asci and paraphyses, Baur found the carpogones in groups of as many as twenty. Disintegrating carpogones or carpogones changed into vegetative hyphae are never found. It appears that almost every carpogone group gives rise to an apothecium. The ascogones give rise to the asco-

genous hyphae, the cells of which are irrgular, large and thin-walled, with granular, much vacuolated cytoplasm and a single large nucleus. Baur finds that secondary apothecia may be formed when the primary apothecium through growth in thickness of the thallus comes to be at too deep a level and is thus forced to degenerate. The ascogenous hyphae grow upwards in the side walls of the apothecium and later form a new hypothecium above the old apothecium. A third apothecium may be formed in the same way. These ascogenous strands may be as much as two millimeters in length.

Fünfstück (42) in 1902 gave a short summary of some of the work that had been done on lichens up to that time. He suggested a third possibility to explain the further development of so few carpogones in *Parmelia acetabulum.* He thought it possible that only a few reach sexual maturity, and that as to the others degeneration has not progressed so far that they are capable of developing in a purely vegetative manner. Fünfstück noted further that the development of secondary apothecia is not at all uncommon. He found that a length of two millimeters for the ascogenous strands is rather a minimum than a maximum, and that they commonly grow to be a centimeter in length. Baur had thought two millimeters the maximum length for these strands.

Again in 1904, Baur (5) described the development of the apothecium in several lichens. In this paper he gives a more complete account than he had given in 1901 of the processes in *Parmelia acetabulum* and *Anaptychia ciliaris.* In the former he again calls attention to the fact that very few carpogones develope into apothecia, and now, following Fünfstück's suggestion, he writes that since spermogonia are in abundance it must follow that either cross fertilization is necessary or else that the carpogones develop apogamously; that only a few develop, is due to unknown causes. In *Parmelia saxatilis* all the carpogones develop to some extent, but only a few complete their development, and produce apothecia. Baur says that the impression is given that the vigorons development of an apothecium has some inhibiting influence upon the development of nearby Anlagen. In the asexual Peltigeras there is, according to Fünfstück (42) the same relation in number of apothecia and Anlagen. The observations up to this time give no certainty either for or against sexuality in *Parmelia acetabulum* and *P. saxatilis.*

From Baur's observations on *Anaptychia ciliaris*, there is no apparent increase in the number of ascogone cells by intercalary divisions. A number of the cells of an ascogone, but not all, give rise to ascogenous hyphae. In *Gryrophora*, the carpogones are in groups which differ from

the groups in other species in that each ascogone is separated from the others of the group by hyphae forming a sheath. It is Baur's opinion that Lindau's "mass of parallel trichogynes" which grow toward the surface of the thallus are the first paraphyses. Baur found no more than 15 to 20 trichogynes and observed that these completely disappear. The vegetative hyphae between the ascogones give rise to the paraphyses. These grow vertically upward toward the surface, growing through and replacing the cortex in exactly the same way that Lindau described for the newly formed trichogynes.

Baur finds that the carpogones of *Solorina* bear little resemblance to those of other lichens. They consist of thick hyphae with thin walls and dense contents. There is a gradual transition of vegetative hyphae into ascogones. The development of the apothecium is purely vegetative, although the ascogenous hyphae come from the ascogones and the paraphyses from the vegetative hyphae between the ascogones. No spermogonia are produced. In *Cladonia pyxidata* (L.) Fr. the podetium has a purely vegetative origin; when it attains some size there appear on the margin spermogonia and groups of carpogones. The approximately parallel vegetative hyphae between the trichogynes are increased by thin-walled, elongated hyphae growing up between, and so are gradually transformed into a layer of paraphyses.

From the preceding paragraphs it will be seen that we have in some lichens a fully developed and functional sexual apparatus consisting of ascogone, trichogyne, and spermatia, and in others an apogamous development of rudimentary carpogones lacking trichogynes, spermatia also being absent. In all lichens in which spermatia have been found by former students of the group, these cells are borne near the surface of the thallus in large numbers in cup-like depressions (the spermogonia) as described by Tulasne in 1850. The trichogynes wherever they have been found, grow up to the surface of the thallus, protrude a short distance and there, in some cases certainly, in others very probably, fuse with the spermatia which are brought to them perhaps by rain as suggested by Stahl.

In a recent preliminary paper, I (1) briefly described and figured the sexual reproductive organs as I have found them in *Collema pulposum* (Bernh.) Ach. In this species the spermatia are not borne in superficial spermogonia, but instead are found few in number borne on lightly staining hyphae some distance below the surface of the thallus. The trichogynes do not protude from the thallus. They are more active than in other lichens, in that they grow entirely within the thallus to

where the spermatia are borne and there fusion of trichogyne and spermatium takes place.

The material used in this work is the same as that which I used for the results described in my former paper. It was obtained from a sandstone cliff overlooking Lake Mendota and from the bluffs along the Wisconsin River near Lone Rock, Wisconsin. Since I had found the reproductive structures of this Wisconsin form of *Collema pulposum* (Bernh.) Ach. to differ so much from what Stahl and Sturgis described for the same species, I gave a full description of my material in my previous paper. In the same paper I described in detail the methods used for fixing, embedding and staining.

Observations.

The thallus of *Collema pulposum* as seen in section is composed of a loose network of anastomosing fungal hyphae embedded in the jelly of the algal symbiont, *Nostoc*. To make the presentation of the subject as clear as possible, I have reproduced from my earlier paper a diagrammatic representation of a section of the thallus (Fig. 1, Pl. XXX). The *Nostoc* filaments are much more abundant near the surface of the thallus, but are also scattered throughout its entire thickness. In unstained sections, the vegetative hyphae are hyaline filaments with their nuclei and the denser parts of their cytoplasm appearing as bright refractive areas. With the exception of the nuclei, the hyphae stain lightly. The hyphae branch repeatedly but irregularly and show much anastomosing (Figs. 3—5). In case several branches arise close together, the parent hypha is usually somewhat swollen near the place of origin of the branches. The cells vary considerably in size. I have found them from 1,5 to 3,5 microns in diameter and as much as 30 microns long. Except in some of the smallest cells, in which growth is apparently most rapid, the cytoplasm is not dense; it is usually spongy with large vacuoles, and occasionally somewhat granular. In small cells there is always but one nucleus (Fig. 12); in larger cells two nuclei are quite commonly present (Fig. 8). This binucleate condition results from the tardy formation of the cross wall after nuclear division.

The resting nuclei stain very clearly. Each has a single nucleole, and the chromatin, connected by fine linin threads, is distributed throughout the nuclear cavity in the form of masses of various size (Figs. 2—8). The nuclear membrane stains lightly. Because of the small size of the nuclei — 1 to 2,5 microns in diameter — the details of nuclear division are not clear. The spindle is at first intranuclear, but by the time it is

fully formed the nuclear membrane is no longer so clearly defined as in the resting nuclei, and very soon it completely disappears (Figs. 10—12). The entire membrane does not disappear at once, the dissolution being more rapid in some parts. In some cases (Fig. 11), there is plainly a centrosome-like body at each end of the spindle. This body is more easily seen when the spindle lies parallel to the plane in which the section was cut, because if the spindle is diagonal to the surface of the section it is often difficult to distinguish a body at the poles from the chromosomes. In the division figure shown in Fig. 11, there appear to be two granules at the pole "*a*"; there are also two stained bodies at the opposite pole, but it is possible that the larger one of these bodies, because of its greater size and its position somewhat at one side of the axis of the spindle, is the remnant of the nucleole. At the equatorial plate stage there seem to be five or six chromosomes. The daughter nuclei may enlarge considerably (Fig. 3) before they move apart. The chromatin, as seen in Figure 3 at *a*, may remain massed until both the cell and the daughter nucleus have increased considerably in size, or, as seen in the same figure, may very soon become distributed as in the resting nulceus. After some time, judging from the number of binucleate cells which may be found, the nuclei migrate one toward either end of the cell and only then is the partition formed which separates the daughter cells.

I have not determined exactly how this partition is formed. It is possible that it is formed by a furrowing in of the plasma membrane from each side of the cell, as has been described for *Cladophora* and other algae. The partition never becomes heavy, and I am inclined to think that there is no deposition of wall material in the cleft. When first formed the partition appears to be continuous (Fig. 2); however, very frequently threads of cytoplasm in adjacent cells meet at the same point in the septum and one cannot be certain that there is no protoplasmic connection. While the partition is not heavy, its position between cells is made very conspicuous by the appearance of material which is most frequently granular and which is deposited all around the edge of the partition but outside of the lateral wall (Figs. 2, 3, 5, 8). These figures show an outside view of the cross walls. Seen in optical section (Fig. 10), it is very evident that this granular material is entirely outside the cell. Such granules are never found on newly formed partitions but only on those between old and quite large cells. Occasionally this material is not deposited in the form of granules but appears to form a homogeneous thickening around the wall (Figs. 4, 6, 7). In one case (Fig. 9, at *a*), I have found material deposited around the lateral cell wall at a place other than where

a septum occurs, at least there is no nucleus between this region and the cross wall at *b*. The septa appear sometimes to have been completely resorbed. In one case (Fig. 6) I found a nucleus exactly where one would have expected to find a septum. In the hyphae shown in Figs. 4 and 7, it is not possible to be certain of a membrane separating the cells. The diameter of the hyphae is so small and the mass of material on the outside of the wall is so dense that it is difficult to see clearly a median optical section. I have tried to show these hyphae (Figs. 4, 6, 7) in median optical section, but the shaded portion which I have represented between the thickenings on the walls may be only a shadow of what is above and below and not anything which is really found in the center of the cell. Some distance below the surface of the thallus, where growth is less active, hyphae composed of these larger cells with conspicuous cross walls are especially abundant.

The vegetative hyphae in many ascomycetes have been described as composed of several or many nucleate cells — in some cases, as in *Boudiera* (Claussen, 18), the number varying with the size of the cells. In the Erysipheae (Harper, 47, 52), the cells are mostly uninucleate but may contain two to four nuclei each. Granules on the cross walls have been found in a number of cases. Harper has described them in *Pyronema* (51) and in the same species and in *Boudiera*, Claussen (18, 20) finds they have metachromatic properties and that they are single or in abundance on the septa. Since he observed that granules may pass through the septa, Claussen believes that the latter are perforated. Miss Ternetz (77) has figured and described conspicuous granules either on the cross walls or elsewhere in the cells of *Ascophanus carneus* and observed that the cross walls offer no obstruction at all to the movement of these granules from one cell to another. In *Collema pulposum* the partitions between the cells appear to be continuous. I know of nothing reported for other forms similar to the mass of granules which I have described outside the hyphae but at the cross walls.

Carpogones are formed as soon as growth begins in the spring, and in May or June they are found abundantly in both early and late stages of development. In lobes of small fruiting thalli at this time about half of the sections (25 microns thick) show parts of carpogones. The carpogones are found singly, or more often in groups of three or four, and are usually about one-fourth of the total thickness of the thallus below the upper surface. They may branch from cells of older vegetative hyphae, or they may arise from filaments in which growth is more active and which connect the older hyphae. The vegetative hyphae in this region

show frequent anastomoses, but these may be found at any place where growth is especially active. Growth followed by nuclear and cell division may sometimes take place quite rapidly in the short filament connecting two hyphae so that it becomes divided into short cells which are isodiametric or if elongated, are at most only a few times their width in length. Such a filament may bear several carpogones (Fig. 13). The cytoplasm in the cells of such a filament is denser and more granular than that in the older cells of the hyphae which it connects; the nuclei of this filament are also very distinct and larger in proportion to the size of the cell. The greater density of the cytoplasm probably makes the proportion of living nuclear and cytoplasmic material about the same as that in the long cells of other hyphae. From one or more of the cells of the filament in question new branches grow out which coil at once and form the carpogones.

The cells of a carpogone are exactly like those of the hypha on which it is borne — thin-walled, isodiametric at first and later two to three times as long as wide. The resemblance extends also to the cell contents. There are from 15 to 25 cells in such a coil. The number of spirals varies from 2 to about $3^1/_2$. Sometimes the spiral is loosely and unevenly coiled; more often it is coiled quite evenly. The cross walls show no openings between adjacent cells (Fig. 13).

Very shortly after the spirals are formed, the terminal cell begins to elongate. It is 3 to 5 microns wide and reaches a length of 175 to 280 microns. This long terminal cell of a carpogone is always easily distinguished from the vegetative hyphae in a stained section by its color. It is stained more deeply blue than the other hyphae. It is sometimes reddish if the exposure to the safranin has been prolonged, but is very seldom stained by the orange. This deep stain is probably due to a slight increase in thickness of the cell wall which appears to take the stain very readily. The width of the cell is also slightly greater than that of most of the vegetative cells, and the greater width, together with the deeper stain and the absence of cross walls, makes it very conspicuous. Very often several of the cells next to the terminal cell are elongated more than those further back in the coils of the carpogone.

Stahl has distinguished three parts in the carpogone — the receptive portion and the conductive portion which together make up the trichogyne, and the coiled ascogone from which later the ascogenous hyphae develop. In my material these three parts may be readily distinguished. The trichogyne, using Stahl's terminology, is more than the long terminal cell. It includes also the several somewhat elongated cells below

the terminal cell which later disintegrate and take no further part in the development of the fruit body.

In order to trace the long terminal cell as well as to reconstruct the coils of the carpogone, serial sections are absolutely necessary. But even then difficulties abound. I have noted above that several carpogones frequently originate close together. The coils often become entangled so that in a section ten microns thick it is impossible to follow any one carpogone for more than a few cells and quite a hopeless task to reconstruct any one. In order to facilitate the tracing of these hyphae, I have cut many sections 25 microns thick. With some practice, these thick sections may be well stained for cytological as well as for morphological study. In such a section often as many as two consecutive coils of a carpogone may be found with no break (Fig. 25, Pl. XXXII). But this depends entirely on the looseness or regularity of the coil. However, the terminal cell always extends through several sections. The carpogone which is shown in Figure 36, Pl. XXXIII, was reconstructed from 13 sections. For this work of reconstruction I have found it necessary to make camera lucida outlines of the thallus under low power magnification and then to indicate on those drawings the points at which the hypha in question begins and ends. I have then located these points with the oil immersion lens and taken micrometer measurements of the distances between neighboring hyphae. The next section is then outlined, the points located and the measurements compared. In this way it is possible to trace with considerable accuracy a carpogone which is not too much entangled with others. Tracing the terminal cell from section to section, one finds that it grows not vertically upward toward the surface of the thallus, but more or less horizontally or parallel to the plane of the thallus. It is not straight, but often somewhat winding. It contains very little stainable cytoplasm, which is usually in irregular shreds or plates and slightly granular. The nucleus has enlarged with the growth of the cell and is usually somewhere near its middle part. The nucleus is oval or sometimes more elongated (Fig. 54, Pl. XXXV). The chromatin is on the nuclear membrane, and frequently granules which stain like chromatin appear to be just outside the membrane in the cytoplasm. There is often a granule at one end of the nucleus which because of its position and staining capacity suggests a centrosome. The end of the nucleus bearing this body may be turned either toward or away from the apical end of the cell (Fig. 54 *a* and *b*). In Figure 54, the nucleus at *a* is quite near the end of the cell; but this is exceptional. The nucleus of the penultimate cell of the trichogyne is also sometimes elongated.

As already noted, no organs resembling the spermogonia of other lichens have been found in my material. There are, however, small groups of cells in the same thallus and in the same part of the thallus in which the carpogones occur which, because of their resemblance to the spermatia of other lichens and their relation to the trichogynes, I have concluded are the spermatia. These cells are borne in scattered groups imbedded in the thallus at a depth of 100 to 300 microns from the upper surface. They are ovoid or more often slightly pear-shaped cells, often more or less constricted in the center (Fig. 15, Pl. XXXI; Figs. 53, 54, Pl. XXXV). They are 2 to 3 microns wide and 9 to 12 microns long. They stain lightly. There may be but few in a group — sometimes only two or as many as 14 or 15 may be found in a single cluster. If only a few are present they are borne terminally. if more, some may be terminal and others lateral. They arise by what appears to be a process of budding from certain slender, lightly staining hyphae. The cells of the hyphae bearing them are often much shorter than the spermatia; sometimes the latter are quite long and narrow (Fig. 37, Pl. XXXIII). Frequently they form such dense groups that the exact manner of their origin is difficult to determine. Very commonly they are found free, suspended in the jelly of the Nostoc. Apparently when mature they are not at all firmly attached to the filament on which they are borne. There is no evidence in such sections that they have been torn away by the process of fixing and cutting. It is not impossible that the strain which results from the alternate loss and absorption of water by the gelatinous thallus is sufficient to separate the spermatium from the spermatiophore.

I have frequently found scattered in the thallus at some little distance below the upper surface rather large cells with walls somewhat thickened. These cells are stained much more deeply than the slender hyphae on which they are borne. They frequently contain two nuclei. Very often there are several such cells very close together (Fig. 20, Pl. XXXI), and in such a case it is not always easy to see their relation to ordinary hyphae. I have never observed that these cells are in any way related to the formation of carpogones. A few times I have found such cells in close proximity to groups of spermatia (Figs. 22, 23), and it occurred to me that they were in some way related to the production of the male cells. In one instance the spermatiophore certainly appears to come directly from such a cell (Fig. 23, at *a*). There is also no doubt as to the origin of this large binucleate cell. By changing the focus this cell appears as shown in Figure 24. It is very evident that it is merely

a swelling of this hypha. A third hypha at *b* (Fig. 23) seems also to be connected with the binucleate cell. I have noted that the hyphae anastomose very frequently, and it appears that such large cells as I have described may arise where the hyphae become connected. The spermatiophore shown in Figure 23 at *c* appears to come from the large cell at the base, but in this case I am less certain that the two cells are connected. There is need of much more evidence before we can accept it as a fact that these irregularly swollen cells are always concerned with the production of spermatia. I have merely noted here a few observations, which strongly suggest such a relation. Further study of my preparations may make it possible for me to add to these observations at a later time.

The spermatia have definite cell walls. This is especially evident from the length of time that the cells retain their shape after the contents have passed into the trichogyne (Fig. 54, Pl. XXXV; Fig. 26, Pl. XXXII). When the spermatia are first formed each contains a single nucleus (Fig. 15 at *a*, Pl. XXXI), which, except for its minute size, appears not to differ from the resting nuclei in the vegetative hyphae. The nuclear membrane is quite distinct and the chromatin stains deeply. If a nucleole is present, it is not possible to distinguish it from the chromatin. The chromatin may be so evenly distributed on the nuclear membrane that the nucleus looks like a globule of clear material with only the outline stained. I have never seen a dividing nucleus in a spermatium, and yet these cells later appear to contain two or three globular bodies each of which at first sight might be taken for a nucleus (Fig. 15 at *d*). After much study of my preparations, I am quite certain that there is but one nucleus. By referring to several figures the reasons for this conclusion may be made clear. The single nucleus is often somewhat elongated (Fig. 15 at *a*). Fig. 15 at *b* shows a spermatium with a single large pear-shaped nucleus and a smaller globule. At *c* in Fig. 15 and at *c* in Fig. 54, Pl. XXXV, are cells with the contained structures similar to those figured in Fig. 15, Pl. XXXI at *b*, but seen in a somewhat different plane so that the larger body in each cell appears ovoid. Frequently the arrangement of the stainable material in this larger body is such that it appears at first sight to be two bodies instead of one (Fig. 54, Pl. XXXV at *c* and Fig. 22, Pl. XXXI at *a*). If we turn to Fig. 15 at *d* we may explain the apparently three globules as really but one larger and one smaller one. Very frequently, however, these three globules do not appear to be so distinct. The stainable material is quite evenly distributed on the margin of each as seen in optical section and there seems to be but one nucleus which is either

lobed or merely appears so because of the way the chromatin is arranged (Fig. 22 at *b* and Fig. 23 at *d*). I am quite convinced from my study of these cells that although some figures strongly suggest the presence of two or more often three nuclei, a spermatium after all contains but one large nucleus and that any other globular bodies present are cytoplasmic.

As already noted, the trichogynes do not grow vertically upward to the surface of the thallus, but remain imbedded in it extending horizontally or in the plane of the thallus. If we follow them in their course, the striking fact is at once noted that they grow toward spermatia. In fact, spermatia are most easily found by tracing the long terminal cells of trichogynes which are growing toward them. A single trichogyne may of course run through several sections 25 microns thick. As one is nearing that section in which spermatia are present, frequently more and more parts of trichogynes are seen. The number of spermatia in any place corresponds in general to the number of trichogynes which grow in that direction; where a large number of spermatia are in a group a correspondingly large number of trichogynes converge toward that group (Fig. 54, Pl. XXXV; Fig. 36, Pl. XXXIII). Frequently the trichogynes from ascogones originating rather close together grow toward different groups of spermatia. I have noted that the spermatia and the hyphae bearing them stain lightly even in preparations where all other parts are deeply stained. It may be that this difference in staining capacity is due to a difference in the chemical composition of these cells. That there is a strong attraction exerted by the spermatia upon the trichogynes is very evident from the length of the trichogynes and the directness with which they grow toward the groups of spermatia. It may be that there is some substance secreted by the spermatia to which the trichogynes are positively chemotropic. From the location of the spermatia and the carpogones, it will be seen that the sexual apparatus is completely submerged in the tissues of the thallus. The protective layer of cells found in other lichens about each group of spermatia has disappeared. The trichogynes must seek out the spermatia because the submergence of the latter in the jelly of the thallus makes any great change in their position impossible.

The end of the trichogyne is oval and becomes closely appressed to, and flattened against, the wall of the spermatium. In some cases (Fig. 37, Pl. XXXIII), the tip of the trichogyne coils closely about halfway around the spermatium, and an opening later appears at the tip of the trichogyne and at the side of the spermatium. In other cases the trichogyne does not coil about the spermatium but becomes attached to the

side or end of the latter (Fig. 23, Pl. XXXI). In one case a trichogyne was found with two free spermatia attached to it. Not infrequently an ascogone bears a branched trichogyne — the branching occurring in the penultimate or antepenultimate cell (Figs. 32, 34, Pl. XXXII). In Figure 26, a trichogyne is seen to bear a branch very near its tip. This is the only case I have found in which the branch is so near the end. After the fusion of trichogyne and spermatium the walls separating them become dissolved and the greater part of the contents of the spermatium passes into the trichogyne. There is never anything resembling a nucleus left in the spermatium. I have noted that the terminal cell of the trichogyne contains very little cytoplasm. After fusing with a spermatium the cytoplasm of the latter sometimes appears slightly coarser or more granular and more like that of the trichogyne and suggests that some of the cytoplasm of the trichogyne has passed into the spermatium (Fig. 54, Pl. XXXV). Most frequently the spermatium which has fused with a trichogyne is entirely without any content (Fig. 15, Pl. XXXII). The wall of the spermatium may retain its shape for some time judging by the number of empty spermatium walls I have found. Likewise the terminal cell of the trichogyne is slow to show signs of degeneration. Late stages show the cell wall of the terminal cell collapsed at intervals. I have not found the spermatium nucleus just passing through the opening and into the trichogyne, but since there is no other opening and the spermatium wall is empty after fusion it must follow that the nucleus of the spermatium migrates into the trichogyne. The disappearance of this nucleus could be accounted for in no other way unless it be supposed that immediate disintegration follows the cell fusion. However, I know of no case elsewhere comparable to such a condition, nor are there any traces of disintegrating substances to be found later inside the wall of the spermatium. The latter is empty and remains so.

After the trichogyne has fused with a spermatium, the nucleus of the terminal cell of the former may be found near the middle of the cell or somewhat nearer the distal end (Fig. 54, Pl. XXXV). In a few cases, after fusion of the cells a small globular body about the size of one of the globular bodies I have described in a spermatium, but containing more stainable material, was found in the terminal cell of the trichogyne. Such a body (Fig. 54, Pl. XXXV) might be taken for a spermatium nucleus the chromatin content of which is increasing. I have not succeeded in tracing the trichogynes shown in Figure 54 to the ascogones. In the sexual apparatus shown in Figure 36, Pl. XXXIII, the spermatium wall is empty and nothing appears in the terminal cell of the tricho-

gyne which can be taken for a spermatium nucleus. The densely staining body in Figure 38, Pl. XXXIII, is very probably the degenerating nucleus of the end cell of the trichogyne. The chromatin is no longer distributed in granules but massed so that there is no organized structure in the nucleus; the nuclear membrane is still visible and a densely staining granule appears at one end. This granule may be a centrosome. Such a mass of stainable material is often found in old trichogynes, and in each case, since it is not accompanied by a normal nucleus, I have interpreted it as the disintegrating nucleus of the end cell. In the terminal cell shown in Figures 44—47, Pl. XXXIV, no such structure was found. This represents a very late stage and it may be that the disintegration of the nucleus is complete, or it may be that the body at *a* in Fig. 48 is the remains of this nucleus and that it has moved downward into the next cell. The dense staining body shown in Figure 16, Pl. XXXI, may possibly be the remains of the end cell nucleus.

The remaining cells of the trichogyne and ascogone now begin to show changes. They grow and the nuclei become much larger; each has a conspicuous nucleole and much chromatin in small scattered masses mostly on the nuclear membrane. The chromatin granules are connected by linin threads. The cytoplasm is becoming denser and more granular. I have already noted that the cross walls of the carpogone when it is formed are entire. It is very evident now that they are becoming perforated in the middle. Figure 18 is especially interesting in this connection. The first septum at *a* is plainly perforated, and a strand of cytoplasm extends from one cell into the other. In the penultimate cell are two nuclei which I am inclined to think have been produced by a division of the primary nucleus of this cell; one of the two nuclei is evidently migrating into the branch of the trichogyne which has been formed at this place. At the next lower septum and lying partly within the opening in the center is a mass of chromatic material. This may be a nucleus which is drawn somewhat out of shape in the act of passing through the septum; but the preparation also suggests that there may be two small spindles here. It seems at least to be nuclear material and just about to pass through the septum. It is possible that this is a male nucleus, whether at rest and somewhat out of shape or in a stage of division. The very evident perforation of the first septum, together with the fact that there are two other nuclei beside the one in question in the penultimate cell, makes it highly probable that this mass of nuclear material has migrated from the terminal cell into and through the adjoining lower cell and is just passing into the third cell. In the 12th cell (counting from

the terminal cell) of this carpogone, at *b*, there are two nuclei which differ greatly in size. The larger one I take to be the primary nucleus of the cell. It does not seem likely that this nucleus could have divided and the growth of the daughter nuclei have been so unequal. If the two are not sister nuclei, then the smaller nucleus must have come from another cell. It is also probably not the result of the division of a nucleus in an adjacent cell, because all the nuclei in these cells are of very much the same size with the exception of course of the small nucleus in question. All of the septa distal to this binucleate cell are perforated, although the perforations are much more evident in some cases than in others. It seems probable, therefore, that this small nucleus is a male nucleus. If my conclusions be correct, it follows that either the spermatium contained two nuclei which have passed down the trichogyne, or else that the one nucleus originally present in the spermatium has divided.

But the question is at once presented with which of the nuclei in all the cells of the ascogone will the male nuclei fuse, and why should they not remain in the more distal cells of the carpogone and fuse with some nucleus or nuclei there? The nuclei in the several cells next to the terminal cell take no further part in the development of the fruit body. These cells now begin to exhibit characteristic changes. The cross walls, which up to this time have appeared thin and sharp in outline, now apparently become gelatinized and very much thickened. This thickening is usually greatest in the center of the septum, so that the walls become biconvex (Fig. 30, Pl. XXXII); sometimes, however, they are biconcave (Fig. 33). This process begins in the most distal of the trichogyne septa and progresses toward the ascogone. In the more distal cross walls, the perforations earlier present have been entirely closed by a thick plug of this gelatinous material while the cross walls nearest the ascogone appear as thick gelatinous plates with broad central openings. Sometimes this mass is thicker on one side of a septum than on the other. It is possible to see clearly the extent of the former opening because the remains of the cross walls on either side of the opening appear denser than the gelatinous substance which surrounds them (Fig. 28). In still older trichogynes the denser cross walls disappear and leave a clear hyaline zone (Figs. 27, 29), which after a time may extend entirely across the gelatinous plug. The cross walls nearest the ascogone appear as thick gelatinous plates with broad central openings. The figures show these gelatinized walls in median optical section, except in those cases in which a sharp bend of the trichogyne upward or downward has made it necessary to draw end views of them. In my preparations made with

the triple stain, these swollen, gelatinous cross walls of the trichogyne take a deep orange color with even a very short exposure to Orange G. This makes this part of the trichogyne extremely conspicuous and easy to find in the sections. The blue staining terminal cells and the brown cross walls are very conspicuous even after the apothecium has been formed. The nucleus in each of these cells very soon becomes smaller (Fig. 40, Pl. XXXIII), and the chromatin is no longer massed in granules but is evenly distributed on the nuclear membrane so that the latter appears in section as a circle with a much thickened circumference. It is possible that the nucleus at *a* in Figure 49, Pl. XXXIV, is in the early stages of transformation to such a condition. In the same figure, the disintegrating nucleus at *b* resembles a normal nucleus only in outline. In Figure 48 at *c* the mass of stainable material at one end of the cell may be partly chromatin. Along with the nuclear changes in the trichogyne cells go changes in the cytoplasm. The cells maintain their cylindrical shape for some time, but by the time the thickening of the cross walls is greatest and the nucleus is disappearing (Fig. 29, Pl. XXXII), the cytoplasm has become denser, the plasma membrane has been drawn away from the side walls, and these walls begin to bend in toward the center of the cell giving the cell somewhat the shape of an hour-glass. At the cross walls the hyphae remain as wide as before. As the cytoplasm becomes denser, small, irregular, red-staining masses appear (Figs. 28, 29), which increase in size until much of the cell contents is stained deeply (Fig. 27). However, as disintegration continues still further, the mass of cytoplasm stains less deeply; but the brown walls remain conspicuous.

The cells of the ascogone have now increased in size and the perforations of the cross walls have become more evident. This increase in size of the cells is not accompanied by an increase in the stainable substance of the cytoplasm. This continues to decrease in amount until there is very little in the cells. The nuclei, on the other hand, maintain their size. The chromatin is no longer so finely distributed; in many nuclei it is collected in larger masses, doubtless indicating the early prophases of division. Figures 41—43, Pl. XXXIII, represent a stage somewhat later than that shown in Figure 19, Pl. XXXI. Here the cells are still uninucleate with the exception of the one at *a* which has two nuclei. There is no evidence of a former cross wall between these two nuclei, whence it follows either that the two result from the division of a single nucleus or that one nucleus has come from another cell. The nuclear membranes are not distinct, but the arrangement of the chromatin

suggests that there has been no diminution in size. Again it seems not improbable that one of the two is a male nucleus. The cross walls of the ascogone continue to be resorbed until there are only traces of them left. While the cross walls are disappearing, there is a migration of the nuclei so that some cells are without a nucleus and with little or no cytoplasm while others are multinucleate. Sometimes in at least a part of the ascogone there are binucleate cells the nuclei of which may originally have been in adjacent cells (Fig. 25, Pl. XXXII). Such cases suggest a process like that which occurs in *Ascobolus* (Welsford, 87), in which after the cross walls of the ascogone have become broadly perforated there is a migration of the ascogone nuclei followed by a fusing of the latter in pairs. In *Ascobolus*, all the nuclei migrate to one cell from which the ascogenous hyphae arise. I am not convinced as yet that these nuclei which I sometimes find in pairs fuse; at least I have seen no perfectly clear case of a nuclear fusion. In some ascogones the nuclei are so close together that fusion is strongly suggested, and from some preparations it is impossible to be certain that such a process is not occurring. The large size of the nuclei shown in Figure 25 at *a* and *b* might suggest that each of these nuclei is the result of a fusion of two nuclei. I have noted that the nuclear membrane always stains very lightly, which makes it very difficult to be certain of nuclear fusion; then too, we cannot be certain that these nuclei are all ascogone nuclei. To be certain of this we must know what happens in every cell of the ascogone — which is not always easy. It is not safe to conclude that the pairs of nuclei in the ascogone shown in Figure 25 are female, since branches of the ascogone have been formed at *c* and at *d*. I have not succeeded in following these branches. All of the cross walls of the ascogone are broken down and so any particular nucleus might be supposed to be either male or female. It is evident that this part of the ascogone which is branched has developed most rapidly.

The number of nuclei in these nucleated parts (originally cells) of the ascogone is increased by division so that groups of smaller nuclei result. Judging from the number of these smaller nuclei, there can hardly be more than three or four divisions before the ascogenous hyphae are formed. Figure 50, Pl. XXXIV at *a*, shows a group of twelve nuclei in a part of the ascogone which is just beginning to give off a branch. In this group two of the twelve nuclei are each about twice the size of any of the other ten. It is possible that these two will divide again shortly. At *b* in this same ascogone is a group of eleven nuclei each of which is about as large as each of the two larger ones in the group at *a*. There

are empty cells on either side from which some of these nuclei may have migrated. The divisions of the nuclei in a group are not simultaneous (Fig. 50 at *d*). While in some cases the number of nuclei in a group is a multiple of two, this is not always true. In the group of twelve above mentioned, even if the two larger should divide there would be only fourteen instead of sixteen as would be expected to result from a regular series of divisions from one or two nuclei. However, it may be that part of the daughter nuclei of one cell migrate in one direction and part in another direction. From the size of the nuclei no conclusion can be drawn as to their origin. At *e* in Figure 50 are two very small nuclei, with the remains of the spindle still between them. It might be suggested that these are male nuclei, but in Figure 19, Pl. XXXI at *b*, the smaller of the two nuclei, which I think is probably a male nucleus, is much larger than the nuclei in the spermatia; and from Figure 41, Pl. XXXIII at *a*, it seems very probable that this increase in size of the male nucleus within the cells of the ascogone is continued until it equals in size each female nucleus. Because of the perforations in the cross walls of the ascogone, and of such nuclear behavior as I have shown in Figures 18 and 19, Pl. XXXI, it can scarcely be doubted that there is a migration of male nuclei into the ascogone, whether or not a fusion occurs later. Some of the ascogone nuclei are very slow to divide. For example, in the cell shown in Figure 50, Pl. XXXIV at *c*, the primary nucleus has probably not divided at all. If there is a migration of a spermatium nucleus or of a nucleus resulting from the division of the spermatium nucleus into each cell of the ascogone, it may be that the presence of this second nucleus is the stimulus which causes the primary nucleus of that cell to divide; in such cases, the failure of the ascogone nucleus to divide may be due to the absence of a spermatium nucleus. It may be too that a nuclear fusion must precede the division of the ascogone nuclei.

There are about five, perhaps six, chromosomes on the spindle of these smaller ascogone nuclei (Fig. 50, Pl. XXXIV). This is the same chromosome number that is found in the nuclear divisions in the vegetative hyphae, and is not what would be expected if there had been a fusion of ascogone nuclei in pairs. However, it is not impossible that such a fusion has occurred and that the chromosomes on these spindles are bivalent, but such a condition would be out of harmony with all known cases. It might also be that if there is a fusion of nuclei in the ascogone, this does not take place until the nuclei have divided several times.

The vegetative hyphae are very numerous in the region where ascogones are developing. These hyphae branch repeatedly and grow in between and around the coils of the ascogones (Fig. 55, Pl. XXXV). Branches grow upward and form the Anlage of the fruit body. The growth of these hyphae is directed toward one point near the surface of the thallus. As growth continues, more hyphae grow around those first formed so that the apothecium when it is formed is more or less spherical. The ultimate branches of these vegetative hyphae form the paraphyses. The cross walls of the basal cells of the carpogone do not become perforated. Very frequently some of these basal cells of the carpogone are binucleate and often these nuclei are so close together that fusion is suggested (Fig. 55). However, in no case could I be certain of such a process. Very probably after each division, the two daughter nuclei reorganize very close together and the apparent fusion is thus accounted for. The cytoplasm is quite granular. From these basal cells of the carpogone and also from the cells of the special hyphae on which the carpogones are borne, branches arise which give rise to paraphyses. These vegetative hyphae, including the paraphyses, stain rather deeply with safranin or gentian.

The fruit body is at this time made up of a very compact mass of hyphae — the upright parallel hyphae which are the first paraphyses and form the hymenium, and a dense weft of hyphae below the hymenium. Embedded in the dense weft of vegetative hyphae are the ascogone cells. These cells are sometimes empty or they may contain several nuclei each (Fig. 63, Pl. XXXV). Several ascogenous hyphae may be given off from one ascogone cell (Fig. 62). The ascogenous hyphae stain quite differently from the paraphyses — usually more orange. The cytoplasm is not granular and is rather scanty in amount. The hyphae are septate, but the cells, especially those near the point of origin of the hyphae, vary much in length. The number of nuclei in these basal cells of the ascogenous hyphae varies (Fig. 63), but the more distal cells have quite regularly two or three nuclei (Figs. 56—61). It is difficult to see how there can be any regular arrangement of the nuclei in pairs at this time. The nuclei in a cell divide entirely independently of each other — resting nuclei and spindles are very often seen in the same cell. The resting nuclei of these cells stain very clearly, the chromatin being in granular masses scattered about on the membrane, but the division spindles are never distinct. In my preparations the spindles look like dense red streaks and the chromatin, when it can be distinguished, seems to be in a single mass. In the telophase stages, the red-stained spindle is still to be seen

with a tiny globular nucleus at each end (Fig. 61). The ascogenous hyphae, to some extent interlaced with vegetative hyphae, come to form quite a dense tissue below the hymenium (Fig. 64, Pl. XXXV). In many cells there are two nuclei but many other cells contain each a single nucleus. The nuclei of the ascogenous hyphae are considerably larger than those of the vegetative hyphae in this region (Fig. 64).

By the time this tissue of ascogenous cells has been formed below the paraphyses, the fruit body has enlarged and is no longer spherical. The algal cells which are crowded above the hymenium near the surface of the thallus are seen to be disintegrating, and only a gelatinous layer forms a covering through which the developing apothecium bursts. The first asci are formed shortly before the hymenium becomes exposed. Because of the very dense structure of the hypothecium I have not succeeded in determining without doubt just how the asci are formed from the ascogenous hyphae. In a few cases the end of the hook described for many other ascomycetes, from which the ascus arises, was rather doubtfully to be seen.

It is not difficult to find young two-nucleate asci. The two nuclei do not fuse until the ascus has elongated considerably. In Figure 67, the two nuclei lie closely side by side. There is a conspicuous red-staining granule at the lower end of each nucleus which may be a centrosome. The chromatin is usually distributed on the nuclear membrane, and not infrequently granules in the cytoplasm are also in direct contact with the nuclear membrane. In another young ascus (not figured) whose nuclei have just fused, there are two granules outside on the nuclear membrane and very close together. These again suggest that the two masses in Figure 67 are probably centrosomes. If these are centrosomes, there is no visible connection between them and the chromatin. In the primary ascus nucleus the chromatin is aggregated into a very irregular spirem which is at first thin and smooth throughout, but is later made up of more or less rounded masses of chromatin. The nucleus enlarges with the growth of the ascus and does not divide until the ascus has grown to its full length. The nucleole is usually excentric, quite large and apparently homogeneous. It has enlarged with the growth of the nucleus, and since the chromatin has also increased in bulk it cannot be that the chromatin comes from the nucleole. The number of chromatin masses in the spirem appears not to vary greatly in number. In synapsis, the spirem is drawn into a quite compact mass in which some of the chromatin masses may still be seen. The position of the synaptic knot has no relation to that of the nucleole. After synapsis the chromatin is again in

the form of a knotty spirem. Later a sharply defined centrosome-like body appears at each end of the nucleus. This is probably not intranuclear. MAIRE (68) and GUILLIERMOND (45) have described an intranuclear origin for the centrosome. HARPER (48) figured the central body on, but outside, the nuclear membrane, which becomes depressed or pulled in when the spindle is formed. FRASER and WELSFORD (38) have found the central body behaving in the same way as described by HARPER — the central bodies moving apart and later the radiations from the poles uniting to form the spindle. In my preparations the nuclear membrane does not persist for any great length of time, but the body at the poles of the spindle certainly appears to be outside the membrane. Even by the time the chromosomes have become arranged in the equatorial plate, the nuclear membrane may have almost entirely disappeared. The spindle is intranuclear. The centrosome-like body is sometimes plainly double, as in the vegetative divisions. In Figure 75, that at the lower pole is very evidently made up of more than one granule. In the spindle shown in Figure 74, I could see but a single granule at each pole, and in Figure 73 there is no sharply stained body. I have found no evidence of a connection between the masses of chromatin und a central body such as HARPER (52) has described in *Phyllactinia.* Radiating out from each pole of the spindle there is a very clearly defined polar aster, the rays of which may be traced far out into the cytoplasm.

The nucleole sometimes persists and stains quite deeply after the spindle is fully formed. In late prophases (Figs. 74, 75) the chromosomes are scattered about on the spindle. They are small ovoid bodies about twice as long as wide. Later in the metaphase stage they are aggregated in the center of the spindle. What I take to be an early metaphase shows about twelve chromosomes, which are now split longitudinally (Fig. 73). The first nuclear division in the ascus is preceded by a distinct synapsis stage (Fig. 71) which harmonizes with the conclusions of other writers that this is a heterotypic division separating whole chromosomes. We should expect therefore to find the reduced number of chromosomes in the equatorial plate. Whether my conclusions as to the number in the metaphase stage (twelve) is exactly correct or not, it is at least evident that about twice as many chromosomes appear in the first division in the ascus as in the nuclear divisions in the vegetative hyphae. If a single nuclear fusion has occurred in the life history of the fungus, the reduced number should be the same as that found in the vegetative divisions, which is probably six. Since the number appearing in the first division in the ascus is twelve it follows that there have probably been two nuclear

fusions, one certainly in the ascus, the other very probably in the ascogone.

I have no preparations showing the spindle of the second division. In the third division there are probably six chromosomes. In Figure 76, which shows this division, there are at least five chromosomes. The figure suggests six, but this is not so evident when studying the preparation, and besides one of the six may be a nucleole. In the third division therefore, the gametophytic number again appears. Hence there must be a second reduction in number either in the second or in the third division of the ascus. In the spindle of the third division the central bodies are very conspicuous and in some cases at least, they are plainly double (Fig. 76). I have not succeeded in staining the aster if one is present in the metaphase stage of this division.

After the third division is completed each nucleus is drawn out into a long beak with the central body in contact with the end of the beak and also with the plasma membrane of the ascus. The plasma membrane is sometimes pulled in somewhat toward the nucleus. The rays of the aster, which is now very evident, are bent backward and around the nucleus to form the spore membrane (Fig. 77), in the manner first described by Harper (50) for several ascomycetes. The cytoplasm of the ascus is at all times very finely granular with an occasional larger and more conspicuous granule. There are never any large number of "metachromatic bodies" in the cytoplasm of the ascus such as are commonly found in the asci of many other forms.

The uninucleate spore enlarges and elongates to about twice its width, and the eight spores completely fill the ascus before further division occurs. With the growth of the spore the epiplasm disappears so that finally none is left and the ascus is filled by the eight large spores. The nucleus enlarges considerably. The chromatin becomes distributed as in a resting nucleus and a large nucleole is formed, even before the spore is completely delimited (Fig. 77). The cytoplasm of the spore is always spongy rather than granular (Fig. 78). The mature spore is muriform (Fig. 83). The nuclear divisions show a conspicuous large central body at either pole and five or six chromosomes. My preparations fail to show spindle fibers. After each division cross walls are formed. The first three or occasionally the first five septa divide the spore transversely (Figs. 79, 80). Then there are formed two longitudinal walls at right angles to each other (Fig. 82) which divide all except the end cells of the spore (Fig. 83). This results in a ten- or eighteen-celled spore.

The hymenium is at first concave, but as more asci and paraphyses are formed, it becomes flattened and even convex. A sheath of paraphyses forms a thin pseudo-parenchyma layer, the proper exciple, which separates the fruit body from the surrounding thallus. In *Collema microphyllum* (Stahl, 14) the proper exciple originates in paraphysis-like filaments and forms a pseudo-parenchymatous layer which surrounds the hymenium in much the same way as I find it in *C. pulposum.* In the latter species as growth continues and the apothecium enlarges, the whole structure is carried upward and with it some of the surrounding thallus, so that when the apothecia are old they may be somewhat above the surface of the thallus. A part of the thallus which has been carried upward and which surrounds the fruit body forms the thalloid exciple.

Discussion.

The Number and Structure of Carpogones.

I have found the carpogones of *Collema pulposum* isolated or in groups of three or four. In the *Collemas*, Stahl found that the apothecia commonly arise each from a single carpogone. He also figured the carpogones of *C. pulposum* as isolated. This he found is typical for the genus. I have found them only occasionally isolated. In *Physma compactum* (Stahl, 74), the fruit body is compound. Stahl observed also that the size of the mature apothecium is not correlated with the number of carpogones, since in *Physma* the apothecia are comparatively small. I have found considerable variation in the size of the apothecia in my material, but have no evidence as to whether the larger size is the result of age or of the coöperation of several carpogones. An apothecium forms asci for more than one year, but for how much longer my data do not enable me to determine. In *Lecanora subfusca* L., Baur (5) and Lindau (60) found the carpogones in groups of five to ten; in *Endocarpon miniatum* L., Baur found three to eight. Among ascomycetes other than lichens which have compound fruit bodies may be mentioned *Boudiera* (Claussen, 18), *Pyronema* (Tulasne, Harper, Claussen) and *Thecotheus* (Overton, 72).

In my material, the filament which is to bear one or more carpogones, is very often at least, differentiated from the other hyphae by having shorter, broader cells. From this filament the coiled carpogones arise. These may, however, also branch directly from a vegetative hypha which is in no way differentiated. In the latter case the carpogones are more apt to be isolated. Stahl says the carpogones arise from un-

differentiated hyphae, but in one case (Fig. 7, Pl. XXXI), he has figured the cells of a part of this hypha as short and thick like those of the carpogone. BAUR has figured the carpogones arising from undifferentiated hyphae.

I have found that the number of coils of the spiral constituting the carpogone varies from two to three and one-half. Sometimes the spiral is loosely and unevenly coiled, more often it is coiled quite evenly. This is in agreement with what has been described for others pecies of the genus. The number of cells in a spiral varies considerably in different lichens. I have found 15 to 25; STAHL gives 12 to 25 as the number for *Collema microphyllum*, and for *C. crispum* BAUR gives 15 to 20. In *Physcia pulverulenta*, DARBISHIRE finds 30 to 40. The terminal cell of the trichogyne of *Collema pulposum* is exceedingly long sometimes sixty times as long as wide. Such an elongation of this cell has not been described for any other lichen. STAHL found the end cell in *C. microphyllum* somewhat elongated, and for *C. crispum* BAUR describes it as 30 to 40 microns long and 5 to 6 microns wide. According to STAHL, the terminal cell in *C. microphyllum* is often dichotomously branched. In *C. pulposum*, STAHL figures a branching of the carpogone near the base of the trichogyne which occurs in case the trichogyne is not fertilized. In *C. crispum* BAUR says that the carpogone remains unbranched unless the trichogyne is not fertilized, in which case vegetative branches arise from the coils. In *Lecanora subfusca*, BAUR (5) was unable to confirm LINDAU'S (60) observation of branched trichogynes. In *Ramalina fraxinea*, LINDAU found the ascogones branched. I have found in the species I have studied that the trichogynes are sometimes branched; usually this branching occurs in the penultimate cell. It may be that a branch is only formed in case the first trichogyne cell does not fuse with a spermatium. I have not found both branches of a trichogyne attached to spermatia, but the one which has not reached a spermatium shows no signs of disintegration. However, from the rapidity with which the cell walls of the trichogyne become gelatinized, it is doubtful if a second spermatium nucleus brought in by a later developing trichogyne could ever reach the ascogone. In one instance (Fig. 26, Pl. XXXII) I have found the trichogyne unequally branched very near its tip.

A special covering of gelatinous material on the end of the trichogyne, such as STAHL and BAUR have found in other Collemas, is not present in *C. pulposum*. But since the trichogyne is always completely within the thallus such a covering is entirely unnecessary. Such a sticky, gelatinous substance on the tips of trichogynes which protrude may not

only serve as a means of retaining the spermatia, but may also serve as a protection against drying. The trichogyne in my material differs from that described for all other lichens in the greater length of its terminal cell and in the direction in which it grows. It never protrudes from the surface of the thallus but grows more or less parallel to the plane of the thallus toward some place where spermatia are produced. STURGIS (76) does not describe in detail the development of the apothecium in *C. pulposum*. However, he says of *Leptogium myochroum*, "the points observed by me have been entirely comfirmatory of the results obtained by STAHL from his study of this species and of *L. microscopicum* . . . The same remarks apply to *C. pulposum* (Bernh.) Nyl. and *C. nigrescens* (Huds.) Ach.". He figures only a young carpogone of *C. pulposum*. The young carpogones in my material before the terminal cell elongates are exactly like his figure.

Spermogonia and Spermatia.

While spermogonia have been described in a great many lichens by TULASNE, LINDSAY, GLÜCK and others, in some species they seem to be entirely wanting. FÜNFSTÜCK concluded that the genera *Peltigera* and *Peltidea* have no spermogonia, and BAUR finds none in *Solorina*. In all cases where they have been found they are pocket-like depressions in the surface of the thallus and contain innumerable cells, the spermatia, which are borne on specialized branches, the spermatiophores, and which escape through the ostiole of the spermogonium. Spermogonia have been found very commonly in the Collemas. NYLANDER in describing the genus writes: "Spermogonia vulgo arthrosterigmatibus praedita, in paucis modo speciebus sterigmatibus simplicibus." LINDSAY also makes no exceptions of any species but says: "The spermogones of the genus are always immersed in the tissue of the thallus and more or less inconspicuous. The spermatia are in all cases short, rod-shaped, and with obtuse ends. The sterigmata in all specimens examined by me are articulated, — sometimes ramose, — about 1/500 to 1/600 long, composed of short, roundish, or cubical cells." Of *C. pulposum* he writes: "The edge of the thallus as well as the exciple of the apothecia are sometimes studded over with very conspicuous ragged, deep perforations which are the ostioles of old spermogones." In var. *tenax* Hepp. (Sub. *C. multiflorum*) he found the spermogones "scattered upon the edges of the lobes. The envelop is of a deepish-brown cellular tissue. The spermatia are in myriads, rod-shaped, almost atomic as to size".

STAHL found both sterile and fruiting thalli in the form of *C. pul-*

posum which he studied. Carpogones are produced in abundance in the sterile thalli, but they do not give rise to ascogenous hyphae. Instead, they anastomose with neighboring filaments and grow out into vegetative hyphae. This phenomenon Stahl thinks is to be explained by the fact that no spermatia are produced on these sterile thalli. Here and there a rudimentary spermogonium is produced but develops no further than a tangle of hyphae in the margin of the thallus. It may be that such sterile thalli with occasional rudimentary spermogonia are a connecting link between those producing many perfect spermogonia and the form which I have described as producing the spermatia embedded within the thallus. In forms in which spermatia are produced in superficial spermogonia they are exceedingly numerous, while in my material I have never found more than 15 in a cluster.

Aside from their position and the lack of a protective wall of vegetative hyphae, the manner in which the spermatia are borne is much like that described by Tulasne for other Collemas. In *C. pulposum* Ach., according to Tulasne, the spermogonia are sunken in the thallus and contain many branched septate filaments, the spermatiophores, which bear the spermatia laterally and terminally. In *C. cheileum* Ach., the filaments are more branched and the spermogonia are not sunken in the thallus. In Tulasne's figure the spermatia are borne at the sides and ends of the intercalary cells very much as I find them in my material. The figure of *C. pulposum* shows in some cases two spermatia arising from the same cell. The spermatia in this species are small oval cells sometimes constricted in the center. In *C. crispum* Ach., Baur (3) found the spermatia to be small ovoidal cells with nucleus and cytoplasm which stain deeply. He does not give the size nor tell how they are borne. Stahl does not figure the spermogonia nor the spermatia of *C. pulposum.*

I have found in *C. pulposum* little stainable material of any kind in a spermatium. In the rusts, Blackman concluded that the spermatia are male cells largely because of their minute size, small amount of cytoplasm and, in proportion to the cytoplasm, their large amount of chromatin. The nucleo-cytoplasmic relation in the spermatia of *C. pulposum* agrees well with that of male cells generally, but there is not an unusually large amount of chromatin. However, in proportion to the size of the nucleus there is probably more chromatin in a spermatium nucleus than there is in the nulceus of any other cell in the fungus, either vegetative or reproductive. The cells might often be described as ovoidal, but they also very frequently show the distal end somewhat swollen. When the spermatium has become separated from the spermatiophore on which it

was borne, the basal end becomes rounded. Such free spermatia are usually ovoidal. In size, general shape, and relation to the spermatio phore, the spermatia which I have described closely resemble those described for other species of the genus as well as for other forms of *C. pulposum*.

Relation of Spermatium and Trichogyne.

STAHL finds that the spermatia become so very firmly attached to the trichogynes that it is not possible to separate them even by jarring the cover glass. The trichogyne is not curved and appears to be entirely passive. He says there is a bridge-like connection between the trichogyne and spermatium, and he has figured three cases in *C. microphyllum* in which there is plainly a continuity of the contents of these cells. In one of these the spermatium has become attached very near its end while in the other two the point of attachment is at the side and somewhat above the center. The connection is not at the tip of the trichogyne but a short distance from its end. In *C. crispum* (BAUR, 3), the connection is also a little distance from the end of the trichogyne and at the side of the spermatium. BAUR says that because of the minuteness of the spermatium, a direct connection between the cells could not be determined with certainty, but he finds the wall of a spermatium which has fused with a trichogyne empty, while others which have not fused contain nucleus and cytoplasm. He found also that the walls of spermatium and trichogyne at the point of contact become gelatinized in the same manner as the walls of the trichogyne cells. DARBISHIRE (25) likewise was unable to see a continuity of trichogyne and spermatium, but not seldom he found on old, nearly empty trichogynes small structures which he took for the swollen remains of spermatia. He never found more than one such structure attached to a trichogyne. I have found spermatia fused with trichogynes many times, and although the spermatia are so small, in no case was there the slightest doubt of an opening between the cells. There was very plainly a continuity of the two cells and the spermatia were always without a nucleus and usually without any content whatever.

The trichogyne in *C. crispum* and in *C. microphyllum* is described as completely passive. In my material, however, the trichogyne is remarkably active. It not only grows for some distance toward the spermatium, but when it reaches this cell it coils closely about half-way around the spermatium. The opening which is formed between the cells is at or near the tip of the trichogyne and about in the center of the

side of the spermatium. The coiling of the trichogyne about a spermatium is similar to the behavior of the conjugating tube in *Pyronema* as described by Harper (51). Here too the egg cell produces a structure which grows out to the antheridium and coils partly around it before the conjugation pore is formed. Harper says that the conjugating tube applies itself closely to the surface of the antheridium, and in so doing, becomes curved and sometimes even hook-shaped. This behavior is exactly like that of the trichogyne in *Collema pulposum*. In one instance (Fig. 26, Pl. XXXII), I have found a swelling which is stained red in the region of the conjugation pore. From the figure it will be seen that this is not, as Baur described it, an even swelling, plugging this pore like the gelatinous plugs in the trichogyne cells, but a swelling in parts. Harper (51) has described irregular deeply staining bits of material which represent the swollen but not completely dissolved fragments of the broken-down wall in the neighborhood of the conjugation pore in *Pyronema*. The thickening around the pore seems to be for the most part on the wall of the tube rather than on that of the antheridium, and it sometimes extends back over a portion of the under wall of the beak. In the only preparation which I have showing a thickening, it is only around the pore and appears to be a part of the wall which was not broken down. But in *Pyronema* thickening occurs before the antheridial nuclei have passed into the conjugating tube, and results in a strong suture between the two cells. In a number of preparations which show the trichogyne and empty spermatium fused, I find no evidence of any thickening, so it seems that if this commonly occurs in *C. pulposum* it does not appear until rather late. It seems, also, that here the thickening around the pore is only a stage in the disintegration of structures which are now entirely useless; in *Pyronema*, on the other hand, it serves the purpose of attaching the large antheridium very firmly to the conjugating tube so that there is no danger of loss of the male nuclei.

Stahl, Baur and Darbishire observed that spermatia are always found on carpogones which develop further. This is entirely in agreement with what I find in *C. pulposum*. I have not found any carpogones which I am certain disintegrate or return to a vegetative condition, as these three investigators found to be the case when spermatia were lacking. The greater activity of the trichogyne in seeking out a spermatium and the apparently indefinite length to which it may grow doubtless results in every carpogone being fertilized. Baur notes the improbability that it should be merely a matter of accident that spermatia are always found on trichogynes, the ascogones of which develop further. The active

growth of trichogynes toward spermatia and the coiling of the trichogyne tip around the spermatium in *C. pulposum* makes it possible to change Baur's word "unwahrscheinlich" to "unmöglich". In lichens whose trichogynes protrude and are completely passive it must be more or less a matter of accident that spermatia reach the trichogyne through the agency of rain or wind. It may be too that the gelatinous substance on the protruding tip of the trichogyne contains some substance which supplies a chemical stimulus that causes the spermatia, when rain has brought them within range of perception of this stimulus, to reach the trichogyne. The spermatia of lichens are always regarded as non-motile cells. But if there is a gelatinous or sticky sheath of material surrounding the tip of the trichogyne, the spermatium must move or be moved through this if there is to be a fusion of the cells. Excepting at the extreme tip of the trichogyne, Baur has figured this sticky sheath from half to $1^1/_2$ times the thickness of the spermatium. It is not with the extreme tip of the trichogyne that the spermatium fuses, to judge from Baur's and Stahl's figures, but with the side of the trichogyne at a point some little distance from the tip — where, therefore, the sheath is thickest. Hence there must be some means for bringing these walls in contact.

Changes in the Trichogyne following fusion with a Spermatium.

After fusion with a spermatium the protruding cell of the trichogyne in *C. microphyllum* (Stahl, 74) collapses and becomes a formless mass. I do not find that the distal end of the trichogyne in *C. pulposum* is that which first collapses, but rather that the long terminal cell may collapse at various points. The gelatinization of the cross walls of the lower cells of the trichogyne as I have described it agrees very well with the accounts of Stahl and Baur for the forms they studied. In *C. pulposum* these thickened plugs are most often biconvex although they may be biconcave. In *C. microphyllum* they are usually convex, in *Physma compactum* usually concave. The most distal of these cells may become separated by the separation of the gelatinous plug along the plane of the original septum into two parts. In my material, as in other Collemas, this gelatinization begins at the most distal septum and progresses toward the ascogone. The thickening is also least nearest the ascogone, and here the cross walls are very plainly perforated. Baur says that this perforation of the trichogyne cross walls makes it very probable that a relatively firm body, likely the spermatium nucleus, has migrated through the septa. I have shown that this perforation of the walls of the trichogyne and also pro-

bably of some of those of the ascogone takes place before there is any gelatinization at all, but not of course before fusion of trichogyne and spermatium. STAHL suggested that since the changes in the trichogyne walls progress always from the distal cell, the stimulus to cause these changes probably comes from the spermatium and he thought this an evidence of functional sexuality in these forms.

The closing of the pores in the trichogyne cross walls is similar to what occurs in *Pyronema*. In this form (HARPER, 51; CLAUSSEN, 20), the pore between the antheridium and the conjugating tube remains open while that between the conjugating tube and the oogonium is at once closed. HARPER suggests that this relatively transitory opening between the conjugation tube and the oogonium as compared with that between the tube and the antheridium may be the reason why earlier students of *Pyronema* failed to find an opening at all. In *Collema* the perforation of the most distal cross walls of the trichogyne also lasts for only a short time. If this early stage of perforation were omitted (and it could easily be overlooked), the conditions in *Collema* might be similar to what takes place in *Lachnea stercorea* as described by FRASER (35). In this species the ascogone bears a multicellular trichogyne the terminal cell of which fuses with the antheridium. The male nuclei appear to pass into this cell but are cut off from the ascogonium by the lower cells of the trichogyne. FRASER has not described any changes in the cross walls of the trichogyne such as occur in *Collema*, but merely notes that the branch (trichogyne) is cut off from the ascogonium by a wall on which granules may often be observed. CUTTING (22) has described such granules on the cross walls of the archicarp of *Ascophanus carneus*. The archicarp is composed of basal, ascogonial and terminal regions which become fairly definitely marked as development proceeds. The septa are perforated like those of the vegetative cells and bear characteristic granules. Later these granules fuse and form pads which close the pores. "The apical portion of the archicarp as a rule degenerates early and with the loss of contents all of the pads disappear, except the one immediately adjoining the transverse wall which separates this region from the ascogonial region. This pad is very well marked, and the wall bearing it is usually much thickened." In the basal portion of the ascogonium the pads are more persistent while those in the ascogonium, apparently in no definite order, quite irregularly, suddenly disappear. Here again, as in *Pyronema* and in *Collema*, the ascogonium which was formerly continuous with the more distal portion now becomes permanently eparated from it. The pads formed by the gelatinization and fusion

of granules close the pores in the same way that the gelatinous material closes those in the carpogone of *Collema*. CUTTING says that this terminal part of the archicarp of *Ascophanus* is usually composed of three to five cells, but it sometimes seems to grow on. He does not call it a trichogyne, but from his description it seems not especially different from that organ in *Lachnea stercorea* and in *Collema*. It is possible that if it does not now function as a trichogyne it may have done so before the fungus became apogamous. Miss TERNETZ (77) found that this terminal part of the archicarp may not only grow on, but that it may produce other ascogones which then become intercallary structures in this hypha. Neither CUTTING nor Miss TERNETZ found an antheridium.

The changes in the thickness of the cross walls in the trichogyne of *Collema pulposum* and their affinity for the orange are very similar to phenomena described by HARPER (52) for the antheridium of *Phyllactinia*. In this form, after the conjugation pore is closed, the wall of the antheridium increases in thickness by what seems to be mucilaginous degeneration. The swelling, too, is toward the interior of the cell. There is, however, a difference in that in *Collema* it is only the cross walls of the trichogyne which become gelatinized, the outer walls remaining unchanged. In *Phyllactinia* the thickening is less in the region of the closed conjugation pore and greatest on the wall of the antheridium opposite this pore.

There is an important difference in nuclear behavior between the trichogynes of *Pyronema* and those of *Collema pulposum*. In *Pyronema*, the nuclei in the conjugation tube degenerate before the antheridial nuclei leave the antheridium. In *Collema pulposum*, the nucleus in the terminal cell of the trichogyne appears to degenerate early, but the nuclei in the other cells appear entirely normal when the cross walls are first perforated. I have traced only one carpogone in this stage. A later stage shows the nuclei of these lower trichogyne cells degenerated and the cross walls gelatinized. Since each cell contains a single degenerating nulceus, I have taken these for trichogyne nuclei and not for male nuclei. BAUR (3) says that a nucleus is not to be found in the trichogyne cells after the walls are gelatinized; but it may be that he found only very late stages at which the disintegration of nucleus and cytoplasm had progressed much further than in the trichogyne which I have shown in Figure 38, Pl. XXXIII. The deeply staining content which he finds to be the remains of the disintegrating nucleus and cytoplasm, is probably the same that I find later (Figs. 27, 28, 29, Pl. XXXII).

I have found these old trichogyne cells narrower in the center because

of a shrinkage of the protoplast, thus having much the shape of an hour glass. This change in the shape of the trichogyne cells was observed by Stahl, who thought it connected with a loss of water and hence of turgidity. The disintegrating masses of protoplasm have the same appearance as that described for the antheridial cell of the mildews and for the conjugation tube in *Pyronema*. Harper found that the cell sap in these cases disappears, allowing the denser portions to forms a homogeneous mass which has then an affinity for the safranin. Harper also observed that as disintegration continues the mass stains less deeply, but that the brown walls remain conspicuous. This is true for my material. The brown cross walls are still evident when the cell contents are scarcely noticeable.

Stahl found that in *Physma* as in *Collema* the limit of trichogyne and ascogone is sharply defined. He figures the thickened crosswalls of *Physma* gradually decreasing in thickness near the ascogone but not perforated. In this respect my observations on *C. pulposum* are more in agreement with Baur's on *C. crispum*, according to which there is no sharp line of demarcation between trichogyne and ascogone, and the cross walls of the former not only are less thickened near the ascogone but are plainly broadly perforated. These openings are never closed. This is exactly as I find the conditions in my material.

Changes in the ascogone following fertilization.

As a result of fertilization, Stahl, Baur, and Darbishire observed that the cells of the ascogone increase in size. Stahl and Baur found that the number of cells is increased, and Baur noted also that the newly formed septa are entire while the original ascogone cells are plainly perforated. I have found an increase in size in the ascogone cells but do not find any newly formed septa. In *C. pulposum*, the cross walls of the ascogone are almost completely resorbed und the entire ascogone becomes practically one cell. Enough of the margin of the cross walls is left so that it is always possible to determine the extent of the original cells. Baur was unable to follow the nuclear behavior in the ascogone cells, because the dense content of these cells and the thick tangle of vegetative hyphae which has grown up around the ascogone together obscure the nucleus. In the further development of the ascogone, the number of ascogone cells of *C. crispum* is considerably increased by intercalary division. In *Physcia pulverulenta*, according to Darbishire (25), the cells of the ascogone increase in size and become connected by means of broad plasma bands so that at last a multinucleate cell is

formed, in each swelling of which is a single nucleus. DARBISHIRE says that it appears that after fertilization no more cross walls are formed. This last is in agreement with my observations on *Collema pulposum*. However, I have found that any part of the ascogone which represents one of the original cells may contain several nuclei, also that the number varies considerably. Where I have found but one nucleus, as in Figure 50, Pl. XXXIV, at *c*, I have taken it to be the primary nucleus of that cell, which for some reason had not received the stimulus to division. STAHL also observed that as the apothecium Anlage increases in size, the ascogone comes to have more cells as a result of intercalary growth. STAHL says nothing of a breaking down of the cross walls in the ascogone. But it is likely that with unstained preparations these openings are not so evident. Besides, here, as BAUR observed in *C. crispum*, the structure is obscured by the surrounding thick growth of vegetative hyphae. In *Anaptychia ciliaris* (BAUR, 5), the apothecium arises from two or three ascogones which are not so soon covered by vegetative hyphae. The cells of the ascogone increase greatly in size and they are connected by broad plasma bands. There appears to be no increase in the number of cells by intercalary divisions.

Ascogenous and sterile hyphae in the apothecium.

In *Anaptychia* many cells of the ascogone (but not all) branch to give rise to the ascogenous hyphae. As a result of this branching, the ascogone cells become quite empty and later completely disappear. The ascogenous hyphae are thinner walled and stain differently from the vegetative hyphae which make up the sheath around the ascogone. The cells are very irregular in form. In *Pertusaria communis* (BAUR, 4), the cells of the ascogenous hyphae are very irregular in form and are uninucleate, with granular, much vacuolated cytoplasm. In *Collema crispum*, also, BAUR (3) found that the cells of the ascogenous hyphae are uninucleate. In *C. microphyllum*, STAHL describes the hyphae as septate, the cells varying greatly in size and shape — broad cells alternating with narrow ones and often the same cell much expanded at one end and narrowed to a filament at the other end. The content of these cells is like that of the ascogone cells, homogeneous and finely granular. In *C. pulposum* I have found considerable variation in the size of the cells of the ascogenous hyphae and also in the content. I find that there may be one or several nuclei; there is little cytoplasm, and what there is is less granular and stains differently from that of the hyphae from which the paraphyses arise. There is less cytoplasm in the basal cells nearest the

ascogone cells from which the ascogenous hyphae branch off. In *Pyronema* (Harper, 51), the ascogenous hyphae are septate, each cell concontaining several nuclei. The nuclei are always two or three times the size of the nuclei in the vegetative hyphae and thus afford a means of easily distinguishing these hyphae. There are frequently smaller nuclei mingled with the larger ones. These, Harper thinks, are very likely female nuclei which have not been fertilized. They are never found very far from the ascogonium. In old fruits, he finds small nuclei flattened against the wall of the ascogonium and becoming disorganized with the remaining cytoplasm. Fraser describes the nuclei in the ascogenous hyphae of *Humaria rutilans* as larger than those in the surrounding cells. Claussen (20) finds no fusion of male and female nuclei in the oogonium of *Pyronema*, but only a pairing. The female nuclei are considerably larger than the male nuclei at this time, but this difference in size later disappears. In the ascogenous hyphae the nuclei are paired but about the same size. The cells contain a dense plasma content. In *Ascobolus* (Harper, 49), the ascogenous hyphae are septate; those cells next to the ascogone are without content and later become disorganized like the cells of the ascogone. The nuclei of the ascogenous hyphae, as in *Pyronema*, are at least three times as large as those of the vegetative hyphae. The ascogenous hyphae arise only from one of the central cells of the ascogonium. In *Ascophanus carneus* (Cutting, 22), the greater part of the cytoplasm is aggregated in the more distal cells of the ascogenous hyphae. The cells nearest the ascogonium become more and more vacuolated and the nuclei seem to degenerate. The number of nuclei in a cell varies from one to three or five. These hyphae come from several cells of the ascogonium.

In *Phyllactinia* (Harper, 52), the cells of the ascogenous hyphae are uninucleate with the exception of those which are to become asci. These contain two nuclei each. Harper was not able to determine whether the ascogenous hyphae arise from more than one cell of the ascogonium, but at least some of them come from the penultimate cell which regularly contains more than one nucleus. Barker (6, 7) found that the ascogonium in *Rhyparobius* becomes several celled. These cells are at first uninucleate, later binucleate or even quadrinucleate, and give rise to the ascogenous hyphae. Some of the cells of the ascogenous hyphae contain two nuclei which probably fuse to form the primary ascus nucleus. Overton (72) observed that the ascogenous hyphae may arise from any or all of the cells of the ascogone in *Thecotheus* and develop considerably before they become septate. When the cell division is complete the

subterminal cell is binucleate, and it is from this cell that an ascus develops.

For a large number of ascomycetes it has been shown that the origin of the ascogenous hyphae is different from that of the enveloping sheath of vegetative hyphae. Schwendener (73a) in 1864 was the first to suggest this separate origin of asci and paraphyses. In *Collema microphyllum*, Stahl was able to make certain that the hyphae which sheath the ascogone do not arise from it, but was uncertain whether they arise from the hyphae bearing the ascogone or from neighboring hyphae. In the heteromeric lichens which he studied, as well as in *Pannaria*, *Heppia*, and *Hydrothyria*, Sturgis (76) found no differentiation of the hyphae into an ascogenous and an enveloping system; asci and paraphyses have the same origin. In the Collemaceae, Sturgis's results are entirely confirmatory of those of Stahl. Wahlberg (84), studying *Anaptychia* and *Physcia*, thought there was no doubt that asci and paraphyses come from the same hyphae. For *Anaptychia*, Baur (5) found later that the enveloping hyphae and the paraphyses do not come from the hyphae which are directly around the the carpogone, but mostly from hyphae above the ascogone. Darbishire (25) describes the origin of the paraphysis bearing hyphae in *Physcia* from several cells which are between the ascogone and the hyphae on which it is borne, and which in the unfertilized carpogone are longer and narrower than the ascogone cells. Since from these cells only paraphyses are formed, for brevity he designates this part of the carpogone the "paraphysogone". Baur (3) had described the origin of the paraphyses from this part of the carpogone in *Collema crispum*. He observed that while the more distal ascogone cells are plainly perforated, in these basal cells there is no breaking down of the cross walls at all. Darbishire observed that the cells of the "paraphysogone" were only connected by bands of plasma. These basal cells of the carpogone are physiologically the same as the single stalk cell of the oogonium in the mildews and as the two or three disc-shaped cells which make up the stalk of the oogonium in *Pyronema*. In the mildews (Harper), the hyphae which form the wall of the perithecium come from the stalk cell of the oogonium, as in *Erysiphe* (49) and *Sphaerotheca* (47), or from both this and the stalk cell of the antheridium, as in *Phyllactinia* (52). In *Pyronema*, the hyphae which branch to form the paraphyses come from the stalk cells of the oogonium and from the neighboring vegetative cells. Harper was not able to make certain whether some of them also arise from the stalk cells of the antheridium or not. Claussen says that they arise from the hyphae which bear the sexual cells

in *Pyronema* (20) and in *Boudiera* (18). As to *Collema pulposum*, my results are in agreement with those of Baur (3) and Darbishire (25). I have found that the several cells of the carpogone next to the hypha on which it is borne do not become perforated, and that later these cells branch repeatedly to form the hyphae which terminate in the paraphyses. I have found also that the vegetative hyphae in the region surrounding the carpogone are stimulated to growth and form a part of the sterile tissue of the fruit body.

Stahl (74) has described the disappearance of algal cells in the fruit body very much as I have observed it in *Collema pulposum*. He found that as the ascogone becomes ensheathed, Nostoc filaments are included, but later these disappear. They lose their green color and become yellowish and later are only small refractive bodies. In my material the Nostoc filaments are not numerous in the region of the ascogones so that very few become enclosed with the latter in the developing apothecium. However, as the paraphyses grow upward toward the surface and through the zone where Nostoc filaments abound, some few of the filaments come to lie among the paraphyses, but later disappear. The growth of the developing fruit body seems to be more rapid toward the periphery. This results in a depression in the center in which Nostoc filaments are very numerous. By the time the paraphyses are formed, the Nostoc cells have lost their spherical shape and in stained sections do not show a differentiated central body but are deeply staining red masses. As the apothecium continues to enlarge, these red masses disappear completely or may be seen for a time as small red disintegrating masses.

The origin and development of the ascus.

The formation of the ascus I have not observed with certainty. Baur (5) has figured it in *Anaptychia ciliaris* as arising from the penultimate cell of an ascogenous hypha, the tip of which is bent downward to form the hook that has been so commonly described for a number of ascomycetes. In *Galactinia succosa*, Maire (62) found that there may be three successive synkaryons with no trace of a hook, the end cell becoming an ascus. In *Acetabula acetabulum* he (68) found that a hook is formed; this is not transformed into an ascus, but gives rise to two, three, or four binucleate cells of which the last is the ascus. In this succession of binucleate cells Maire sees a similarity to the long series of binucleate cells in the basidiomycetes. In *Acetabula* this series tends to be longer than in most other ascomycetes. Guilliermond (44)

observed the same method of ascus formation in *Acetabula leucomelas.* In *Peziza catinus* (GUILLIERMOND, 45), the ascus arises from a hypha whose terminal cell is uninucleate and whose next one or two cells are binucleate. The subterminal cell grows out into a branch into which the two nuclei migrate and in which they later fuse to form the ascus nucleus. In the young fruit bodies of *Peziza stevensoniana* HARPER (48) found that asci may arise from the terminal cell and from the second cell below this, the cell between remaining sterile, probably because of insufficient nutrient material.

I have described the young ascus as containing two nuclei which later fuse to form the primary nucleus of the ascus. DANGEARD (24) discovered the fusion of two nuclei in the ascus of *Peziza vesiculosa* and several other ascomycetes. The same phenomenon has been noted by all later students of the group. In *Peziza stevensoniana*, HARPER (48) described and figured the primary nucleus of the ascus as the result of the fusion of four nuclei. I have found no evidence of a connection between the masses of chromatin and a central body such as HARPER (52) has described for *Phyllactinia.*

Functional sexuality in the ascomycetes.

As to the sexual nature of the structures which I have described, my results in a general way confirm those of STAHL, BAUR and DARBISHIRE. The published results of the study of ascomycetes in the last decade have shown that "reduced fertilization" in one form or another may possibly be quite widespread among this group of fungi. With the exception of certain lichens, very few of the higher ascomycetes have been found by all who have investigated then to have functional sexual organs. In the mildews having uninucleate sex organs there can be no doubt that there is a fusion of male and female nuclei. HARPER (47, 49, 52) has described these in such detail and with so many convincing figures that there seems to be no reason for doubting a fusion of antheridial and oogonial nuclei. HARPER's work on *Sphaerotheca* (47) has also been confirmed by BLACKMAN and FRASER (10). However, quite recently WINGE (88) in a very short paper with few figures claims that although the antheridium is formed, the male nucleus does not enter the oogonium. He finds the nucleus in the antheridium after the oogonium has become binucleate. This is in agreement with the observations of DANGEARD (24a) in 1897. WINGE's (88) figures are certainly not convincing, and it seems probable that he may have mistaken the disintegrating cytoplasm of the antheridium for a nucleus. *Pyronema*, which has been so fully

described and carefully figured by HARPER (51) and very recently by CLAUSSEN (20), is thought to have a non-functional antheridium by DANGEARD (24a) and BROWN (16). HARPER and CLAUSSEN agree that the contents of the antheridium enter the oogone but disagree as to whether nulcear fusion occurs in the oogone. CLAUSSEN has succeeded in watching the stages of fertilization in living material. There is of course always the possibility that parthenogenetic varieties of sexual species may exist, but with so much positive evidence of a functional antheridium in the mildews and *Pyronema* it will take a very detailed account accompanied by excellent figures to convince botanists that some of these species are parthenogenetic.

Other ascomycetes in which either one or both sexual organs are not produced or are not functional are *Humaria granulata* (BLACKMAN and FRASER, 11), *Humaria rutilans* (FRASER, 36), *Lachnea stercorea* (FRASER, 35), *Aspergillus herbariorum?* (FRASER and CHAMBERS, 37), *Otidea aurantia* and *Peziza vesiculosa* (FRASER and WELSFORD, 38), *Ascobolus furfuraceus* (WELSFORD, 87). *Ascophanus carneus* (CUTTING, 22), *Poronia punctata*, (DAWSON, 26), *Gnomonia erythrostoma* (BROOKS, 15), *Laboulbenia chaetophora* and *L. gyrinidarum* (FAULL, 29), *Lachnea scutellata* (BROWN, 17), and among the lichens *Peltigera canina*, *P. rufescens* and *P. malacea*, *Peltidea aphthosa* and *P. venosa*, *Nephroma tomentosum* and *N. laevigatum* (FÜNFSTÜCK, 40) and *Solorina saccata* (BAUR, 5).

In *Peltigera*, *Peltidea* and *Solorina*, spermogonia are seldom or never found, and in *Nephroma* they are never fully developed. In *Peltigera* and *Peltidea*, the ascogones, as FÜNFSTÜCK described and figures them, arise from undifferentiated vegetative hyphae which are gradually transformed into rows of larger swollen cells which may again terminate in more slender vegetative hyphae. BAUR (5) confirms FÜNFSTÜCK's observations on *Peltigera canina*. In *Nephroma*, the ascogone cells form necklace-like irregularly wound filaments. The ascogones of these lichens have no trichogynes. The complex of hyphae in the regions of their young fruit bodies, forms a dense tissue, in which it would be difficult to follow any one hypha with certainty from section to section. In this respect such gelatinous lichens as *Collema pulposum* are much more favorable material for study. WAINIO (85) points out that in such forms as *Peltigera*, whose ascogones are entirely enclosed within the thallus, all possibility of fertilization by the spermatia is excluded. However, from the conditions in *Collema pulposum*, it seems not impossible that a similar carpogone may exist in the genera investigated by FÜNFSTÜCK. The number of trichogyne cells in *C. pulposum* is less than in many other lichens, and it is

conceivable that a still greater reduction in number may be found in other forms. Then, too, the spermatia may conceivably be borne nearer the ascogones so that a long trichogyne would be unnecessary. The spermatia I have found stain very lightly and are found most easily by tracing the long trichogynes which grow toward them. If they were embedded in a dense plectenchymous tissue, such small cells as I have described the spermatia of *Collema* to be, would be exceedingly difficult to find. I have observed that the basal cells of the trichogyne with their brown staining cross walls make this organ conspicuous, but in a dense tissue like that of *Peltigera*, in which the trichogyne would be difficult to trace if its cells were reduced in number, or if perhaps a slender unicellular trichogyne terminated the ascogone, one might easily think that the ascogone terminates in a vegetative hypha. In these lichens in which spermogonia are rarely found it may be that variations are occurring which tend toward the non-production of superficial spermogonia and toward the production of fewer spermatia embedded within the thallus. Glück (43) figures the spermatia of *Peltigera* as considerably larger than those of many other lichens; but even if the spermatia were relatively large, single cells might not be easy to locate in a dense hyphal tissue. At least it would seem well worth while to make further investigation of those lichens which seldom produce spermogonia, or in which spermogonia are rudimentary or lacking, since there is a possibility that the spermatia are produced elsewhere than in such superficial organs. Fünfstück's paper was published in 1884. Modern technique with serial sections and much patient, persistent study might remove some of these lichens which he studied from the list of apogamous ascomycetes.

It seems entirely possible that *Solorina saccata* may be apogamous and yet it is obviously unsafe to conclude that a lichen apothecium (or for that matter any other fruit body which in many cases is the result of a sexual fusion) develops apogamously simply because no spermogonia are found. *Solorina saccata* bears no spermogonia. In the earliest stages of apothecial development found by Baur (5), the Anlage consists of a group of thick-celled hyphae with dense contents surrounded by a rather thick weft of hyphae. Baur reports that these ascogone cells bear little resemblance to those of other lichens and that they are to be distinguished from vegetative hyphae only by their larger size, their thin walls and their denser content. Especially interesting is the number of nuclei in their cells. The vegetative cells contain two to four nuclei, the ascogone cells often two, but usually only one. There may then be one or two

nuclear fusions in each cell or a degeneration of some of the nuclei. Baur concludes that apothecial development in *Solorina saccata* is a purely vegetative process. He gives but four figures, three of which are magnified only 150 diameters and serve only to show the relation of the ascogones to the other tissues of the thallus. This reduction in the number of nuclei in the cells of the ascogone, if it is the result of fusion, is like that which has been described by Fraser, Blackman, Welsford and Cutting in the ascogones of various ascomycetes.

It may be questioned too whether the male cell has not been overlooked in some other supposedly apogamous ascomycetes. When the oogone is a large cell containing several or many nuclei it seems reasonable to expect that the antheridium would also be rather large and would contain a number of nuclei as in *Pyronema*. But conditions in the lichens show that we may have a large multinucleate oogone fusing with a very small uninucleate antheridium (spermatium). The ascogone is indeed septate and the cells are uninucleate when first formed, but my results as well as those of Baur (3) and Darbishire (25) show that after the trichogyne has fused with a spermatium the cross walls of the ascogone as well as those of the trichogyne are perforated so that what is really a single multinucleate female cell results. Since this condition exists in the lichens, it seems probable that it may be found in other ascomycetes and that we may perhaps find very small antheridial cells borne in unexpected places which serve to fertilize the larger female cell. It would seem especially worth while to investigate certain pyrenomycetes in which there is a coiled ascogone but no trichogyne growing toward the surface of the stroma in which the perithecium later develops.

In a number of discomycetes, a fusion of oogonial nuclei in the oogonium or even of vegetative nuclei in the cells of the hypothecium has been described as replacing the former sexual fusions of male and female nuclei, this "reduced" form of fertilization being correlated with the disappearance or rudimentary form of the male cell. The results of the study of these forms have not been confirmed, and a reinvestigation confirming the fusion of nuclei would be of interest. Claussen, in his recent paper on *Pyronema* (20) as well as in a preliminary paper (19), insists that there is but one fusion — that in the ascus. According to his observations, there is only a pairing of the male and female nuclei in the oogonium, this pairing persisting in the ascogenous hyphae and followed by a nuclear fusion in the ascus. He finds the nuclei paired in the ascogenous hyphae of a considerable number of ascomycetes. In an earlier paper (18) he reported a fusion of nuclei in the oogonium of

Boudiera, but now, after further study of his preparation, concludes that there is only a single fusion. As is well known, the higher ascomycetes have been supposed to differ from all other groups of plants in that there are two nuclear fusions in their life history. CLAUSSEN's contention of a single nuclear fusion works out very nicely theoretically, since it brings these discomycetes closer as regards the phenomena of fertilization, to the oomycetes, rusts, and higher basidiomycetes. But if there is only one fusion of nuclei, the nuclear divisions in the ascus remain a puzzle. Miss FRASER (36) described a second process of chromosome reduction which she termed "brachymeiotic" in *Humaria granulata*. Her results were later confirmed in other species by FRASER and WELSFORD (38). CLAUSSEN finds no brachymeiotic division in the ascus and finds the same number of chromosomes in each of the three nuclear divisions. Besides the indirect evidence of two nuclear fusions in the life history of the fungus furnished by a brachymeiotic division in the ascus, there is the fact that in a very great number of ascomycetes eight spores are formed and that in cases in which less than eight spores are formed, eight nuclei are always formed, some of which later disintegrate. CLAUSSEN (20) seems to consider the formation of eight nuclei of no consequence and apparently thinks that the unimportance of the number of nuclear divisions is shown by the fact that in the genus *Rhyparobius* the number of spores varies from 2^3 to 2^{10}, also that in many ascomycetes the four or eight spores become multicellular. This explanation seems entirely inadequate. If it were possible to show that in a large number of cases only four nuclei were produced in the ascus, we might have some evidence against a possibility of two nuclear fusions. CLAUSSEN finds further ground for his argument in the fact that in some hepatics the spore mother cells divide more than twice so that several-celled spores result, and that in other hepatics the spores germinate within the sporange. All this seems inapplicable to the particular point in question. The fact remains that in all the higher ascomycetes which have been investigated no less than eight nuclei are formed in the ascus although some of them may later disintegrate. The relation of the triple division in the ascus to a second fusion in the life history of the fungus has been discussed by HARPER (52, pp. 82, 83). Whether what we have called multicellular spores should be considered as resting stages in the development of the gametophyte is another question and has no bearing on that of a double nuclear fusion in the life history of the plant.

I have no positive evidence of a fusion of nuclei in the ascogonium in *Collema pulposum*, although the position of the nuclei sometimes

strongly suggests that a fusion is occurring or about to occur. The variable number of nuclei in the cells of the ascogenous hyphae, and the fact that each nucleus divides entirely independently of every other nucleus in the cell, seem to me to be evidence against a pairing of the nuclei of these cells, although it is true that some of the cells are binucleate. But whether there is a single or double fusion of nuclei in *C. pulposum* there can be no doubt as to the difference between the chromosome numbers in the first and third divisions in the ascus, and in this respect my results agree with those of Fraser, Maire, and Fraser and Brooks. It is generally agreed that synapsis is a stage in the prophase of the heterotypic division. This stage is well marked in the form I have studied. The number of chromosomes appearing in the first division is about twelve. This should be the reduced number, to agree with the conditions in the higher plants, in which the reduced chromosome number always appears in the heterotypic division. But in the third division in the ascus only half as many namely, six, chromosomes appear. It seems certain then, that there is a second reduction in *Collema pulposum*, probably in the second division in the ascus. In the ascomycetes which Harper studied, he found the same apparent number of chromosomes throughout the life history. To explain the three divisions in the ascus he says (52, p. 82): "The most natural assumption would seem to be that the chromosomes are quadrivalent in the nucleus of the ascus rather than bivalent, as in ordinary spore mother cells, and that in two of the divisions in the ascus chromosomes are separated instead of in one division, as in the ordinary case." But in *C. pulposum* and those other ascomycetes in which the number of chromosomes in the third division is only half of the number on the spindle of the first division, we have even better evidence than in *Phyllactinia* of the separation of whole chromosomes in two successive divisions. Such evidence is certainly a strong argument in favor of two nuclear fusions.

The nature of fertilization in lichens.

Just in what fertilization consists in the lichens will probably remain an unsettled problem until many workers have attacked it in various members of the group. Baur (3) has suggested that a number of ascogone cells may be egg cells; this would necessitate the migration of a number of male nuclei through the trichogyne or else a repeated division of the spermatium nucleus to form a number of functional male nuclei. But he thinks both these things improbable, since the trichogyne fuses with but one spermatium, and on the other hand, such a division of the male

nucleus is unknown in any other organism. Nor is there a disintegration of female nuclei, as reported in *Vaucheria*, leaving only one to be fertilized. To Baur, following a suggestion of Karsten, it seems most probable that the first ascogone cell serves as the egg cell, the male nucleus fusing with the nucleus of the egg cell, and the fusion nucleus dividing to form nuclei which migrate into the remaining ascogone cells, the latter now functioning as auxiliary cells. From what I have observed, it does not seem likely that the ascogone is divided into an egg and auxiliary cells. At any rate, before we can know what actually does take place in such a structure, it is necessary that a very large number indeed of carpogones be traced with absolute certainty from their origin throughout their length and the complete history of the nuclear behavior noted in each case. This is indeed no small task, but it seems to me the only way of arriving at a safe conclusion.

Fraser and Chambers (37) have suggested that in lichens, fertilization or its equivalent may actually be accomplished before the ascogone becomes septate. But this would exclude all possibility of trichogynes and spermatia being functional sexual organs, since my results as well as those of others show that the carpogone is septate long before there is any fusion with a spermatium. Neither is there any evidence that the cells of the carpogone are sporophyte cells, that is, that there has been cell or nuclear fusion of any kind before the development of this organ. If fertilization could in any way have been accomplished before the development of the trichogyne, it would be difficult indeed to understand just what function could be assigned to this organ behaving as I have described it in *Collema pulposum*.

Wainio (85) long ago argued that the many cross walls of the trichogyne oppose any consideration of its being a fertilizing organ. But Harper (51) has called attention to the fact that since in *Pyronema* two cross walls can be broken down to allow the male nuclei passage into the ascogone, there is no reason why the greater number of cross walls in the lichen trichogyne may not become perforated. Wainio thought it reasonable that the ascogones are nutrition reservoirs for spore formation and that the trichogynes are accidental elongations of the ascogones, and because of the accumulated substance in the ascogones, the trichogynes develop with greater vigor than the other parts of the apothecium. My results as well as those of others show that the ascogone, at least by the time the ascogenous hyphae are formed, does not contain any large amount of nutritive material, and that the vegetative hyphae furnish the nutrition for the developing fruit body. Van Tieghem (89) has had many adherents to

his theory of a respiratory function of the trichogyne. Zukal (90), satisfied that Cornu, Möller and Brefeld had proved the conidial nature of lichen spermatia, saw in the trichogyne a boring organ to puncture the cortex and a means to secure free access of air to the carpogone and later to the primordium of the fruit body. Brooks (15), from his study of *Gnomonia erythrostoma* Pers., is of the opinion that the trichogynes in *Gnomonia* originally functioned as receptive organs, but have later taken on a secondary function, possibly acting as respiratory organs. He suggests that the assimilatory processes of the cells of the host decrease until no oxygen is liberated while the evolution of CO_2 continues for a time, and that these phenomena may necessitate the growth of hyphae through the stomata of the host to the outside atmosphere. But the structures which Brooks describes can scarcely all be called trichogynes, since he finds them growing out from groups of hyphae in which no ascogones can be seen, or growing from ordinary hyphae which are not massed together, or in connection with the margin of a spermogonium, and also undergoing further development as vegetative hyphae. Since a trichogyne is a structure produced by an egg cell or cells and only formed after the oogone or ascogone has developed, it is difficult to see why a branch from an ordinary vegetative hypha, merely because it grows to the surface of the structure in which the lower part of it is embedded, should be called a trichogyne. Whatever the function of these hyphae may be, they are certainly not trichogynes either morphologically or physiologically. These "trichogynes" of *Gnomonia erythrostoma* as described by Brooks remind one of those of *Gyrophora cylindrica* described by Lindau (61), which Baur (5) has shown are probably vegetative hyphae or paraphyses.

The behavior of the trichogyne in *Collema pulposum* must forever end the idea of the trichogyne in lichens being either a respiratory apparatus or a boring organ; nor is there any support whatever for Steiner's[1]) suggestion that the trichogyne cells are probably ascogone cells whose growth energy and ability to produce fertile cells are reduced but whose growth is not completely suppressed. Such a condition provides no means for fertilization and suggests that apogamy is a primitive condition. It is very evident from my results that the trichogyne is exactly what it is in the red algae, a structure developed from the egg cell to conduct the male nucleus to the egg cell. The definite growth of the trichogynes toward the spermatia, and the later changes in both ascogones and trichogynes seem to show plainly that the reproductive organs are functional.

[1]) Cited in Just's Botanischem Jahresbericht. 1901. Abt. I. S. 62.

In view of what has been described of the relation of spermatia and trichogynes by Stahl, Borzi, Sturgis, Lindau, Baur and Darbishire, it would seem as if the sexual nature of spermatia and trichogynes could not be doubted, and yet some recent publications indicate that, at least in the minds of some writers, the sexual nature of these organs is not an established fact. Glück (43), not convinced of the sexual nature of the trichogyne and spermatia by the careful researches of Stahl (74) and Borzi (13), and much impressed by Möller's results, suggests that we have in the fusion of trichogyne and spermatium merely a fusion of a vegetative hypha with spores such as (he says) occurs very commonly. However, such a fusion does not seem to be something which occurs so very commonly. But even if it did, the behavior of the trichogyne in *Collema pulposum* and the nature and position of the spermatia conclusively negative Glück's suggestion. Glück would certainly not consider the male cells as I have described them, to be asexual spores. Brooks (15) says that the diminution of protoplasmic contents in a spermatium attached to a trichogyne, as observed by Frank (34), is not necessarily the result of the passage of the spermatium nucleus into the trichogyne, but that it may be just as readily explained as the process of disorganization which the contents of the spermatia would naturally undergo if these cells remained for any length of time on the exposed trichogyne. However, even though the spermatium content were to become disorganized as a result of drying, it could still be seen. Certainly the disappearance of the nucleus of the male cells in *Collema pulposum* cannot be explained as the result of a disorganization due to drying. Brefeld has always maintained the absence of functional sexual organs in the higher fungi. In one of his more recent volumes (14) he questions whether there is even the shadow of an analogy between the trichogynes of lichens and those of the red algae, and as to the spermatia he holds that they were long since shown to be nothing more than conidia. The spermatia of *Collema pulposum* are certainly entirely homologous with those borne in the spermogonia of other *Collemas*, and it is impossible to conceive after what I have described of their behavior in this species that they are merely conidia. To Blackman (9) a suggestion of Metzger's as to the nature of lichen spermatia seems to be the most satisfactory. Metzger (as quoted by Blackmann) sees in the spermatia of lichens "male cells which have retained a certain power of vegetative development, and, now that in many cases the ascus fruit develops without their aid, they sometimes act as conidia and may have become modified in that direction". However, I do not regard it as proved that the ascus fruit

develops independently of the spermatia in "many" cases or perhaps in any case. Certainly much more study is needed on these forms. As to the inability of these spermatia to germinate, BLACKMAN (9) has pointed out that "a complete absence of power of vegetative development is not a necessary character of male cells, as is shown by the well-known cases of the potential gametes of some algae which can develop either sexually or asexually". MÖLLER's results as to germination may or may not be correct, but the conditions in *Collema pulposum* certainly furnish a final and complete demonstration that the spermatia of lichens are male gametes and not asexual conidia.

In my former paper (1) I have emphasized the greater resemblance of *Collema pulposum*, as compared with other lichens, to *Pyronema* in respect of the greater activity of the trichogyne, the manner in which the trichogyne grows toward and coils about a spermatium, and the reduced number and greater fixity of the spermatia, which are thus more like antheridia. I called attention to the very great similarity of the reproductive structures of *C. pulposum* to those of some of the Laboulbeniaceae as described by THAXTER (18, 19). I have also discussed the old question of the relation of the ascomycetes to the red algae in the light of my present studies, pointing out that in the number and nature of its spermatia and in the manner in which they are borne, *Collema pulposum* forms about the most perfect conceivable connecting link between the aquatic red algae with many non-motile male cells which are, however, set free, and such terrestrial ascomycetes as *Pyronema* and the mildews where the male cells are reduced in number to one or two which remain permanently attached.

I wish again to acknowledge my indebtedness to Prof. R. A. HARPER at whose suggestion this study was begun for his helpful advice and criticism while much of the work was in progress, and to Prof. C. E. ALLEN for various helpful suggestions and the critical reading of the manuscript.

Madison, Wisconsin, Aug. 1. 1912.

Bibliography.

1. Bachmann, Freda M. A new Type of Spermogonium and Fertilization in Collema. Ann. Bot. XXVI. 147—760. 1912.
2. Bauke, H. Zur Kenntnis der Pycniden I. Nov. Act. der Ksl. Leop.-Carol. Deutsch. Akad. d. Naturf. XXXVIII. Nr. 5. 443—512. 1876.
3. Baur, Erwin. Zur Frage nach der Sexualität der Collemaceen. Ber. d. deut. Bot. Gesell. XVI. 363—367. 1898.
4. —— Die Anlage und Entwicklung einiger Flechtenapothecien. Flora. LXXXVI. 319—332. 1888.
5. —— Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Flechtenapothecien I. Bot. Zeitg. LXII. 21—44. 1904.
6. Barker, P. T. B. The development of the ascocarp in Ryparobius. Rept. British A. A. S., Southport. 849—850. 1903.
7. —— Further observations on the ascocarp in Ryparobius. Rept. British A. A. S. Cambridge. 825—826. 1904.
8. Bitter, George. Zur Morphol. u. Systematik v. Parmelia, Untergattung Hypogymnia. Hedwigia XL. 171—274. 1901.
9. Blackman, V. H. On the Fertilization, Alternation of Generations and General Cytology of the Uredineae. Ann. Bot. VIII. 323—313. 1904.
10. Blackman, V. H. and Fraser, H. C. I. Fertilization in Sphaerotheca. Ann. Bot. XIX. 567—569. 1905.
11. —— On the Sexuality and Development of the Ascocarp in Humaria granulata. Proc. Roy. Soc. London. Ser. B. 77—354. 1906.
12. Bornet and Thuret. Fecondation des Florides. Ann. d. Sci. Nat. Bot. Ser. 5. VII. 137—166. 1867.
13. Borzi, A. Studii sulla sessualità degli ascomiceti. Nuovo giornale botanico italiano. Genova 1878.
14. Brefeld, Oscar. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. XIV. 1908.
15. Brooks, F. T. The development of Gnomonia erythrostoma, Pers. The Cherry-leaf Scorch Disease. Am. Bot. XXIV. 585—605. 1910.
16. Brown, W. H. Nuclear Phenomena in Pyronema confluens. John's Hospkin Univ. Circ. VI. 42—45. 1900.
17. —— The Development of the Ascocarp in Lachnea scutellata. Bot. Gaz. LII. 275—305. 1911.
18. Claussen, P. Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten. Boudiera. Bot. Ztg. LXIII. 1—28. 1905.
19. —— Zur Kenntnis der Kernverhältnisse von Pyronema confluens. Ber. d. deut. Bot. Gesell. XXV. 586—590. 1907.
20. —— Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten. Pyronema confluens. Zeitschrift f. Botanik. IV. 1—64. 1912.
21. Cornu, M. Reproduction des Ascomycetes. Ann. d. Sci. Nat. Bot. III. 53—112. 1876.
22. Cutting, E. M. On the Sexuality and Development of the Ascocarp in Ascophanus carneus, Pers. Ann. Bot. XXIII. 399—418. 1909.

23. Dangeard, P. A. Recherches sur le développement du périthèce chez les Ascomycètes. Le Bot. Ser. IX. 1904.
24. —— La Reproduction Sexuelle des Ascomycètes. Le Bot. Ser. 4. 21—61. 1894.
24a. —— Second Mémoire sur la Reproduction sexuelle des Ascomycètes. Le Bot. Ser. V. 245—284. 1897.
25. Darbishire, O. V. Über die Apothecienentwicklung der Flechte Physcia pulverulenta (Schreb.). Nyl. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXIV. 329—345. 1900.
26. Dawson, Maria. On the Biology of Poronia punctata (L.). Ann. Bot. XIV. 245—262. 1900.
27. De Bary, A. and Woronin, M. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze. Bd. I. 1863.
28. —— Comparative Morphology and Biology of the Fungi, Mycetozoa and Bacteria. 1887.
29. Faull, J. H. The Cytology of the Laboulbeniales. Ann. Bot. XXV. 649—654. 1911.
30. Fink, Bruce. The Lichens of Minnesota. Contrib. from U. S. Nat. Herb. XIV. 1—269. 1910.
31. Flotow, J. V. Lichenologische Beiträge zur Flora Europaea. Bot. Ztg. VIII. 553—559. 1850.
32. —— Lichenologische Beiträge zur Flora Europaea. Bot. Ztg. VIII. 569—575. 1850.
33. Forssel, K. B. J. Anatomie u. Systematik der Gloelichenen. Nova Acta Regiae Societatis Scientifiarum. Upsala. Ser. 3. XIII. Nr. 6. 1—118. 1887.
34. Frank, A. B. Über Gnomonia erythrostoma, die Ursache usw. Ber. d. deutsch. Bot. Gesell. IV. 200—206. 1886.
35. Fraser, H. C. I. On the Sexuality and Development of the Ascocarp in Lachnea stercorea. Ann. Bot. XXI. 349—358. 1907.
36. —— Contributions to the Cytology of Humaria rutilans. Ann. Bot. XXII. 35—55. 1908.
37. Fraser, H. C. I. and Chambers, H. S. The Morpology of Aspergillus herbariorum. Ann. Mycol. V. 419—431. 1907.
38. Fraser, H. C. I. and Welsford, E. J. Further Contributions to the Cytology of the Ascomycetes. Ann. Bot. XXII. 465—477. 1908.
39. Fries, Elias Magnus. Lichenographia Europaea reformata. Lundae. Typis Berlingianis. 1831.
40. Fünfstück, M. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Lichenen. Jahrb. d. Kgl. Bot. Gartens zu Berlin. III. 1884.
41. —— Lichenologische Notizen. Fünfstücks Beiträge zur wiss. Bot. Bd. III. Abt. 2. 1899.
42. —— Der gegenwärtige Stand der Flechtenforschung nebst Ausblicken auf deren voraussichtliche Weiterentwicklung. Ber. d. deutsch. Bot. Gesellsch. XX. 62—77. 1902.
43. Glück, H. Entwurf zu einer vergleichenden Morphologie der Flechten-Spermogonien. S. A. Verhandl. naturhist. mediz. Vereins Heidelberg. N. F. V. 1899.
44. Guilliermond, A. A. Remarques sur la cytologie des Ascomycètes. Comp. Rend. Soc. Biol. LVII. 1904.

45. Guilliermond, A. A. Remarques sur la Karyokinèse des Ascomycètes. Ann. Mycol. III. 344 à 361. 1905.
46. —— Contributions à l'étude de la formation des asques et de l'épiplasme des Ascomycètes. Rev. Gen. Bot. XVI. 1—65. 1904.
47. Harper, R. A. Die Entwicklung des Peritheciums bei Sphaerotheca castagnei. Ber. d. deutsch. Bot. Gesell. XIII. 475—481. 1895.
48. —— Beiträge zur Kenntnis der Kernteilung und Sporenbildung im Ascus. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesell. XIII. 67—68. 1895.
49. —— Über das Verhalten der Kerne bei der Fruchtentwicklung einiger Ascomyceten. Jahrb. Wiss. Bot. XXIX. 655—685. 1896.
50. —— Kernteilung und freie Zellbildung im Ascus. Jahrb. Wiss. Bot. XXX. 249—284. 1897.
51. —— Sexual Reproduction in Pyronema confluens and the morphology of the ascocarp. Ann. Bot. XIV. 321—400. 1900.
52. —— Sexual reproduction and the organization of the nucleus in certain mildews. Publ. Carnegie Institution, Washington. No. 37. 1905.
53. Itzigsohn, Hermann. Die Antheridien und Spermatozoen der Flechten. Bot. Ztg. VIII. 393—394. 1850.
54. —— Über die Antheridien und Spermatozoen der Flechten. Bot. Ztg. VIII. 913—919. 1850.
55. —— Bestätigung der Spermatozoen von Borrera. Bot. Ztg. IX. 152—154. 1851.
56. Janczewski. Morphol. Untersuchungen über Ascobolus. Bot. Ztg. XXIX. 257. 1871.
57. Kihlmann, O. Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten. Acta Soc. Fennicae. XIII. 1883.
58. Krabbe, G. Entwicklung, Sprossung und Teilung einiger Flechtenapothecien. Bot. Ztg. XL. 65—83, 89—99, 105—115, 121—142. 1882.
58a. —— Morphologie u. Entwicklungsgeschichte der Cladonien. Ber. d. deut. Bot. Gesell. I. 64—77. 1883.
59. Lindsay, W. L. Memoir on the Spermogones and Pycnides of filamentous, fruticolous and foliaceous Lichens. Trans. Roy. Soc. Edinburgh. XXII. 1857—59.
60. Lindau, G. Über Anlage und Entwicklung einiger Flechtenapothecien. Flora. LXXI. 451—489. 1888.
61. —— Beiträge zur Kenntnis der Gattung Gyrophora. Bot. Untersuch. Festschrift Schwendener. 19—36. 1899.
62. Maire, R. Recherches cytologiques sur les Galactinia succosa. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris. CXXXVII. 769—771. 1903.
63. —— La formation des asques chez les Pezizes et l'évolution nucléaire des Ascomycètes. Compt. Rend. Soc. Biol. LV. 1401. 1903.
64. —— Remarques sur la cytologie de quelques Ascomycètes. Compt. Rend. Soc. Biol. LVI. 86. 1904.
65. —— Sur les divisions nucléaires dans l'asque de la morelle et de quelques autres Ascomycètes. Compt. Rend. Soc. Biol. LVI. 822. 1904.
66. —— La mitose hétérotypique et la signification des protochromosomes chez les Basidiomycètes. Compt. Rend. Soc. Biol. LVIII. 726. 1905.
67. —— La mitose hétérotypique chez les Ascomycètes. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris. CXLIX. 950—952. 1905.

68. Maire, R. Recherches cytologiques zur quelques Ascomycètes. Ann. Mycol. III. 123—154. 1905.
69. Möller, A. Über die Kultur flechtenbildender Ascomyceten ohne Algen. Untersuch. aus dem bot. Inst. der kgl. Akademie zu Münster. 1887.
70. Nichols, M. A. The morphology and development of certain pyrenomycetous fungi. Bot. Gazette. XXII. 301—328. 1896.
71. Nylander, William. Synopsis Methodica Lichenum. Paris. 1858—1860.
72. Overton, J. B. The Morphology of the Ascocarp and Spore Formation in the Many-spored Asci of Thecotheus pelletieri. Bot. Gaz. XLII. 450—492. 1906.
73. —— The Organization of the Nucleus in the Pollen Mother cells of certain plants. Ann. Bot. XXIII. 19—62. 1909.
73a. Schwendener, S. Über die »Apothecia primitus aperta« und die Entwicklung der Apothecien im Allgemeinen. Flora. XLVII. 321—332. 1864.
74. Stahl, E. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Flechten. Leipzig 1877.
75. Steiner, J. Über die Funktion und den systematischen Wert der Pycnoconidien der Flechten. Festschrift zur Feier des 200jährigen Bestandes des K. K. Staatsgymnasiums im VIII. Bezirke Wiens. 1901.
76. Sturgis, W. C. On the carpological structure and development of the Collemaceae and allied groups. Proc. Am. Acad. Arts. and Sci. XXV. 15—52. 1890.
77. Ternetz, Charlotte. Protoplasmabewegung und Fruchtkörperbildung bei Ascophanus carneus Per. Jahrb. f. Wiss. Bot. XXXV. 273—312. 1900.
78. Thaxter, R. Contributions toward a Monograph of the Laboulbeniaceae. Mem. Am. Acad. Arts and Sci. XII. 1895.
79. —— Contributions toward a Monograph of the Laboulbeniaceae. Part. II. Mem. Am. Acad. Arts. and Sci. XIII. 1908.
80. Tuckerman, Edward. North American Lichens I. 1882.
81. Tulasne, L. R. Mémoire sur les Lichens. Am. d. Sci. Nat. Bot. XVII. 153—249. 1852.
82. —— Nouvelles Recherches sur l'Appareil Reproducteur des Champignons. Ann. d. Sci. Nat. Bot. XX. 129—183. 1853.
83. —— Selecta Fungorum Carpologia. 1865.
84. Wahlberg, Arth. Über die Apothecienentwicklung bei einigen Flechten der Gattungen Anaptychia und Physcia. Öfversigt af Finska veten Soc. Förhandlingar. Helsingfors. XLIV. 91—120. 1901—02.
85. Wainio, E. A. Etude sur la Classification Naturelle et La Morphologie Des Lichens Du Brésil. Acta Soc. pro. Fauna et Flora Fennica. Helsingfors. VII. 1—256. 1890.
86. —— Monographia Cladoniarum universalis. Acta Soc. pro Fauna et Flora Fennica. Helsingfors. XIV. 1—268. 1897.
87. Welsford, E. J. Fertilization in Ascobolus furfuraceus Pers. New Phytologist. VI. 156—181. 1907.
88. Winge, O. Encore le Sphaerotheca Castagnei Lev. Bull. Soc. Mycol. de France. XXVII. 211—219. 1911.
89. Van Tieghem. Traité de Botanique. II. 1891.
90. Zukal, H. Morphologische und biologische Untersuchungen über die Flechten. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Mathem.-naturw. Klasse. CV. Abt. 1. 1896.

Explanation of Plates.

All of the figures with the exception of Fig. 1 were outlined with the aid of a camera lucida.

Plate XXX.

Fig. 1. Diagrammatic representation of a section of upper half of thallus showing location of carpogones and spermatia.

Figs. 2—12. Vegetative hyphae. × 2000.

Fig. 13. Hypha bearing young carpogones. × 1600.

Plate XXXI.

Fig. 14. Trichogynes converging about a group of spermatia. End of trichogyne fused with spermatium at *a*. Reconstructed from several sections. × 346.

Figs. 15—19. Parts of same carpogone as in Fig. 14 enlarged to show contents of cells. Lines and arrow heads show how parts should connect. × 1600.

Figs. 20—21. Swollen and irregular cells of hyphae. × 1600.

Fig. 22. Large cells very near spermatia group. × 1600.

Fig. 23. Spermatiophore apparently connected with large cells. × 1600.

Fig. 24. Same cell as in Fig. 23 at *a* as seen in a different plane. × 1600.

Plate XXXII.

Fig. 25. Coils of ascogone with a few trichogyne cells. Cross walls perforated and nuclei migrating. Branching at *c* and *d*. Growth from basal part of ascogone showing cross walls entire. × 1118.

Fig. 26. Trichogynes fused with empty spermatia. × 1600.

Figs. 27—31. Thickened cross walls of trichogyne cells. Various stages of disintegration of cell contents. × 2000.

Fig. 32. Branching of trichogyne. × 2000.

Fig. 33. Concave gelatinous cross wall. × 2000.

Fig. 34. Branched trichogyne. × 800.

Fig. 35. Composite drawing from two sections showing coils of ascogone and part of trichogyne. Part of cross walls of ascogone perforated. × 1118.

Plate XXXIII.

Fig. 36. Entire carpogone reconstructed. × 346.

Figs. 37—43. Same carpogone as in Fig. 36 enlarged to show contents of cells. Fig. 38 reconstructed from four sections and Fig. 40 from three. Lines and arrow heads indicate how connected. × 1600.

Plate XXXIV.

Figs. 44—51. Entire carpogone from several sections. Figs. 49 and 51 reconstructed from two successive sections. × 2400.

Fig. 52. Same ascogone with part of trichogyne as in Figs. 44—51 reconstructed. × 346.

Plate XXXV.

Fig. 53. Group of spermatia not attached to spermatiophore. × 1600.

Fig. 54. Trichogynes growing toward and fusing with spermatia. × 1600.

Fig. 55. Basal cells of carpogone and cells of branch on which carpogone is borne growing out vegetatively. Also vegetative hyphae around ascogone. × 800.

Figs. 56—61. Ascogenous hyphae. × 1118.

Figs. 62—63. Origin of ascogenous hyphae. × 1118.

Plate XXXVI.

Fig. 64. Ascogenous hyphae in hypothecium, also two vegetative hyphae. × 800.

Fig. 65. Paraphyses. × 1118.

Figs. 66—67. Two nucleated young asci. × 2000.

Figs. 68—70. Stages in formation of spirem in primary nucleus of ascus. × 3000.

Fig. 71. Synapsis. × 2000.

Fig. 72. Spirem in nucleus. × 2000.

Fig. 73. Metaphase stage of first nuclear division. × 1600.

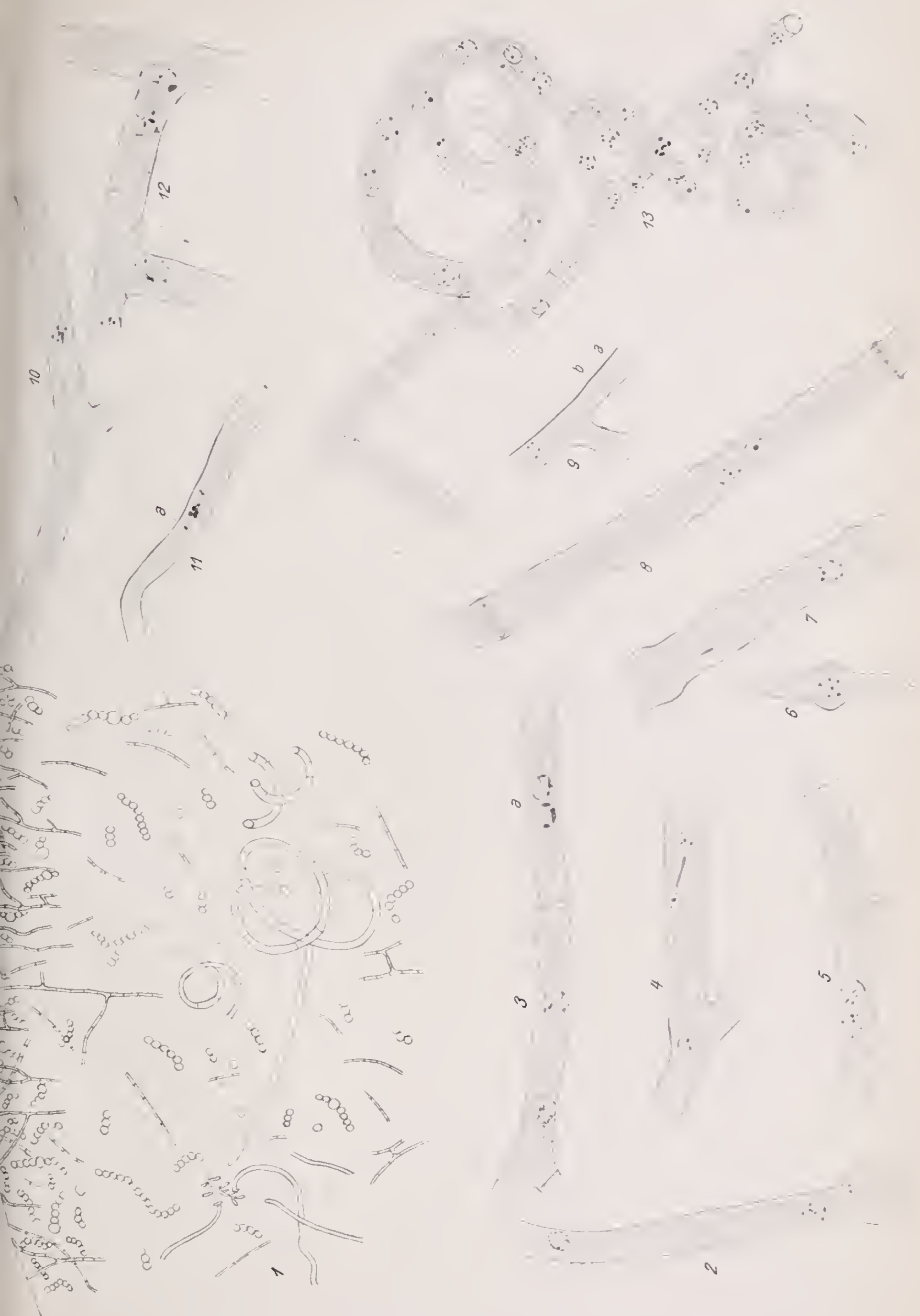
Figs. 74—75. Late prophase stages of first nuclear division. × 1600.

Fig. 76. Third nuclear division in ascus. × 2000.

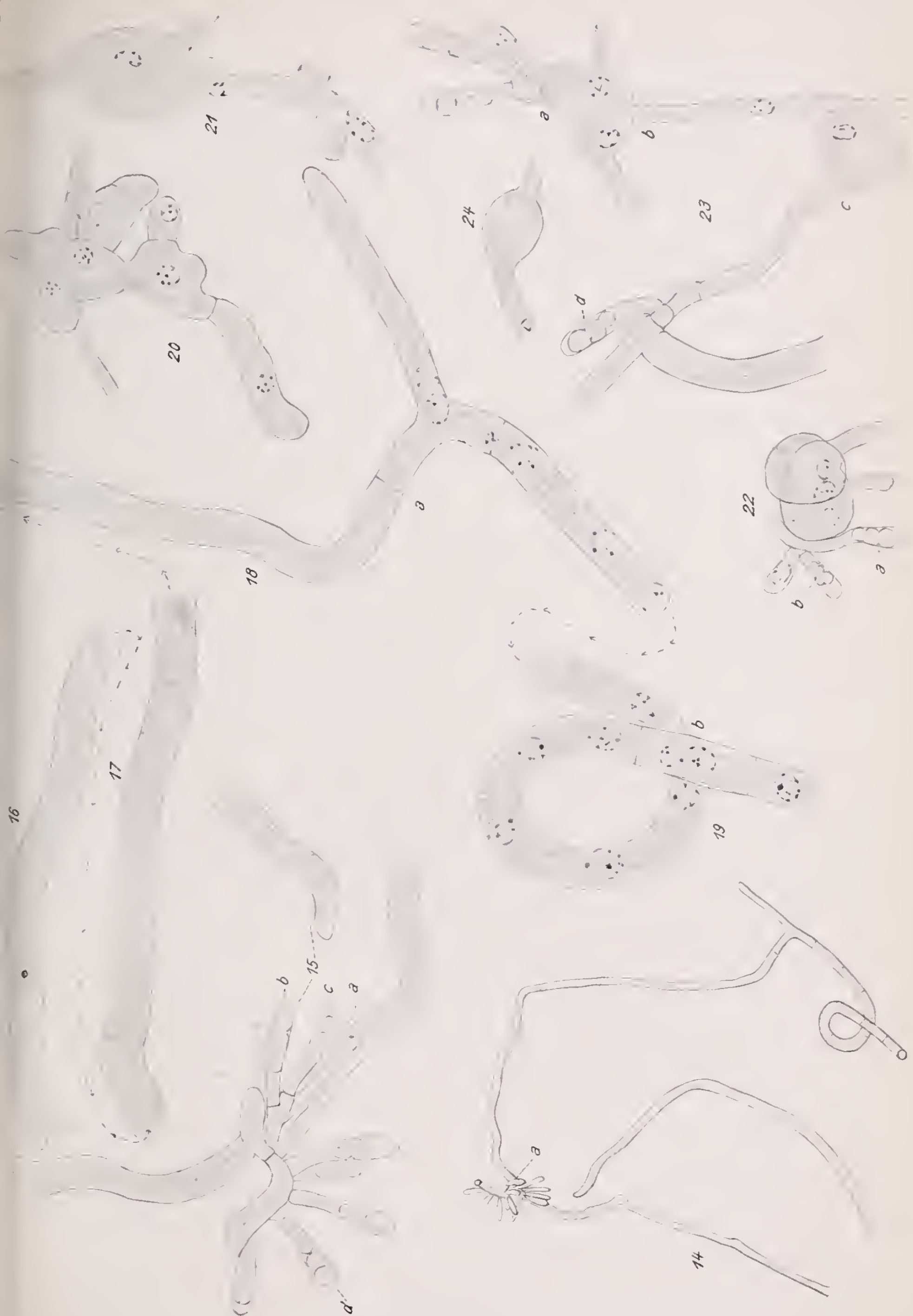
Fig. 77. Spore formation. × 2000.

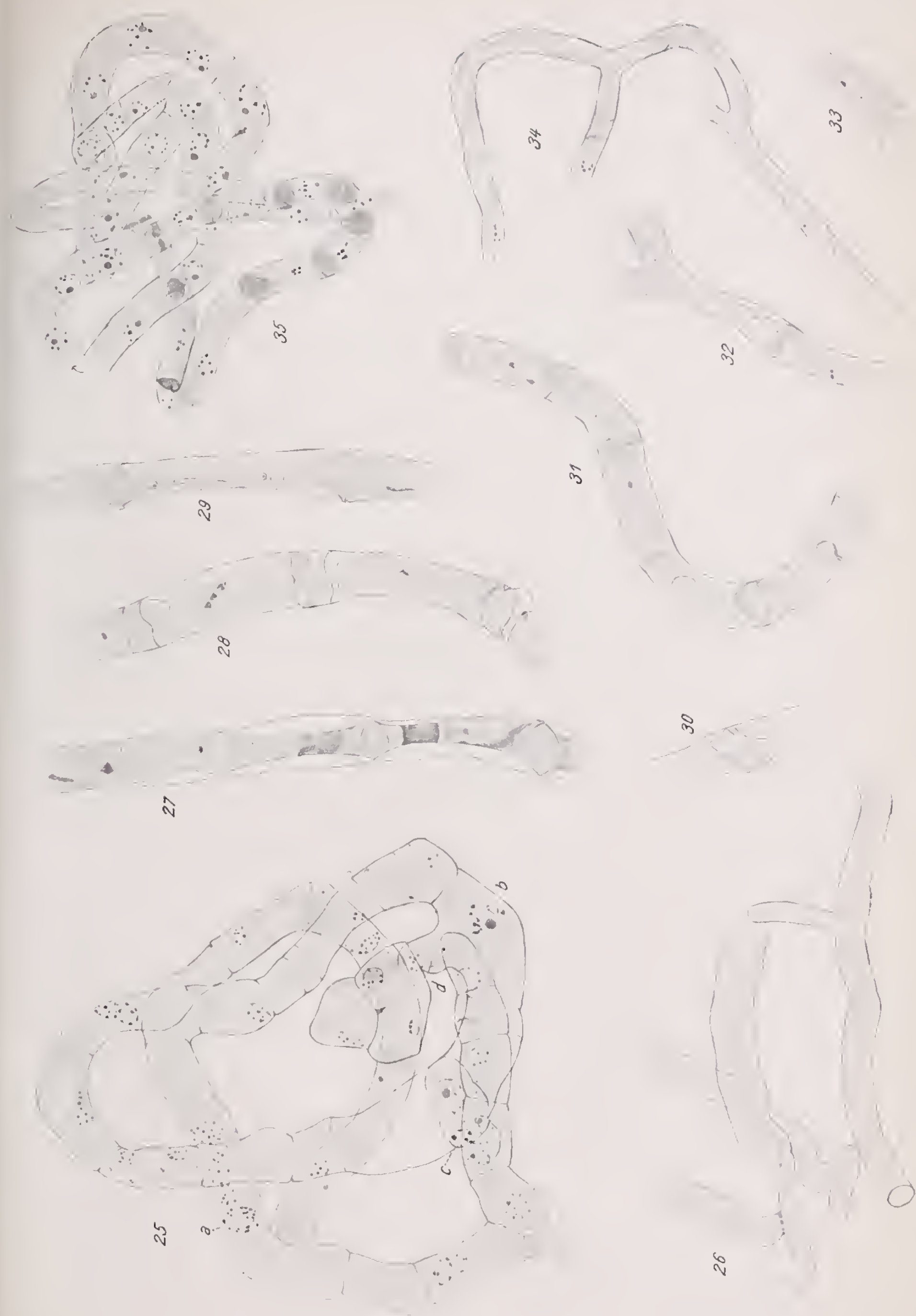
Figs. 78—83. Stages in development of spore. × 2000.

Fig. 82. Transverse section of spore. × 2000.



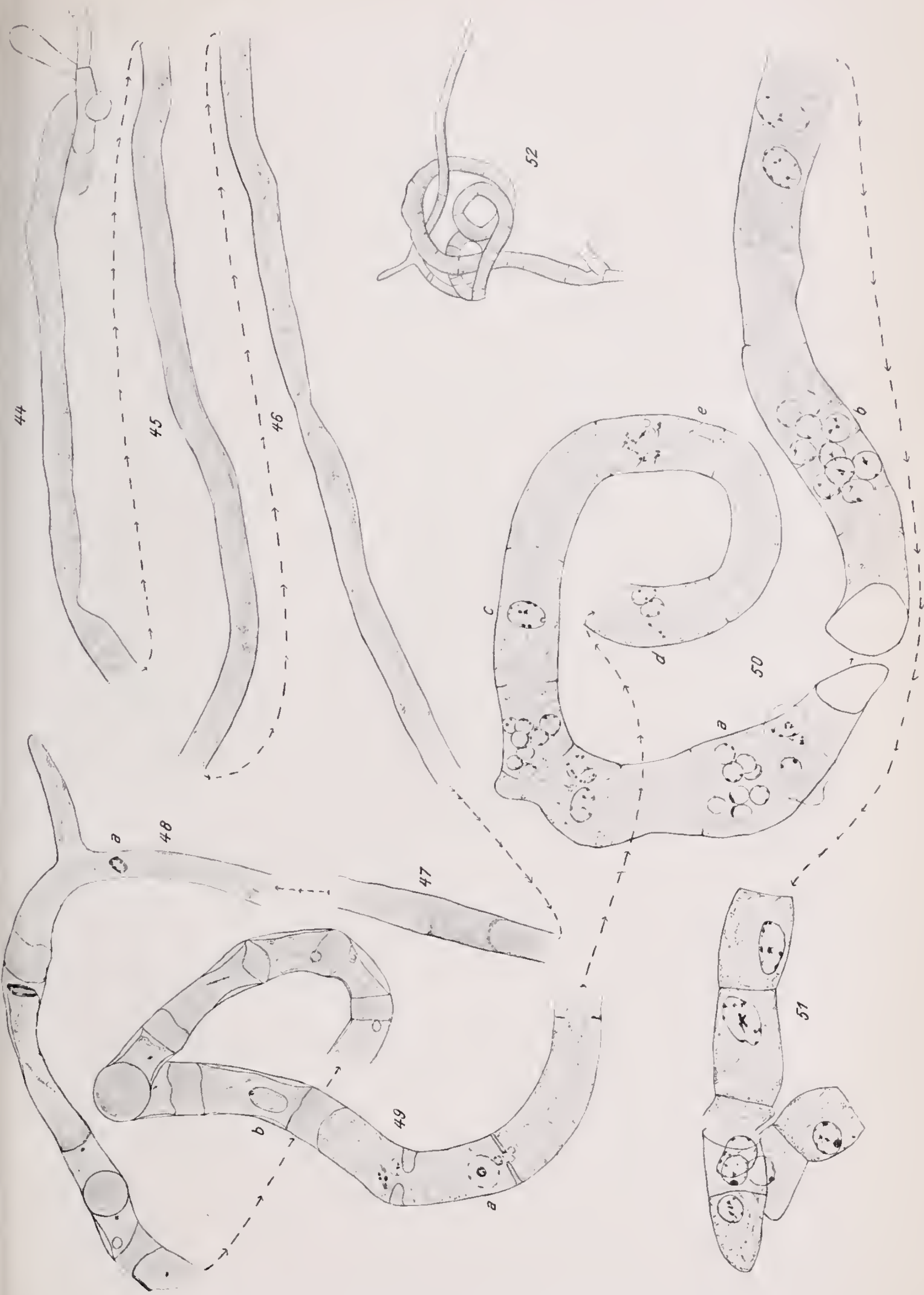
chmann. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.

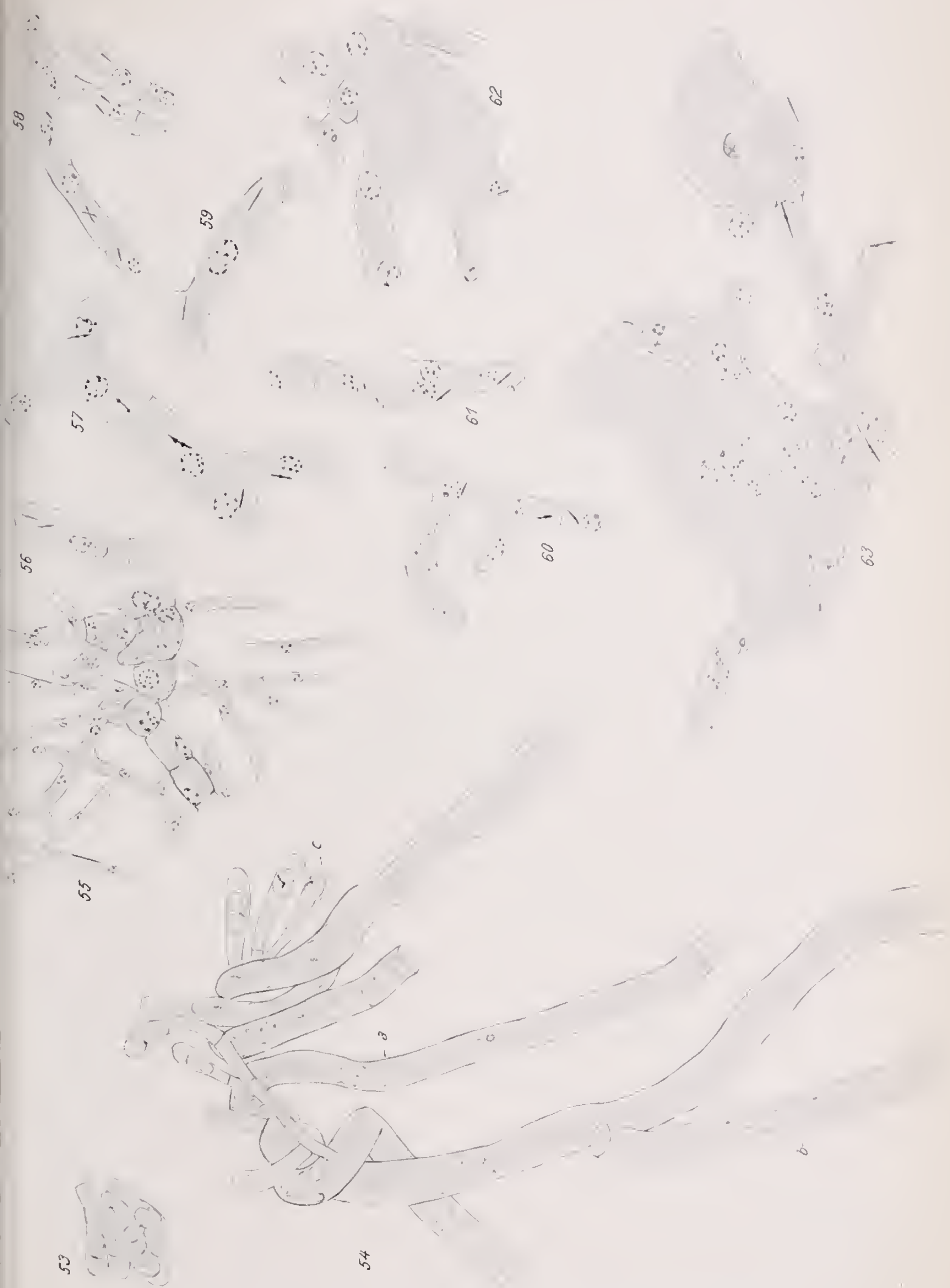

21
23
24
20
18
22
17
16
19
15
14


34
33
35
32
31
29
28
30
27
b
d
c
25
a
26

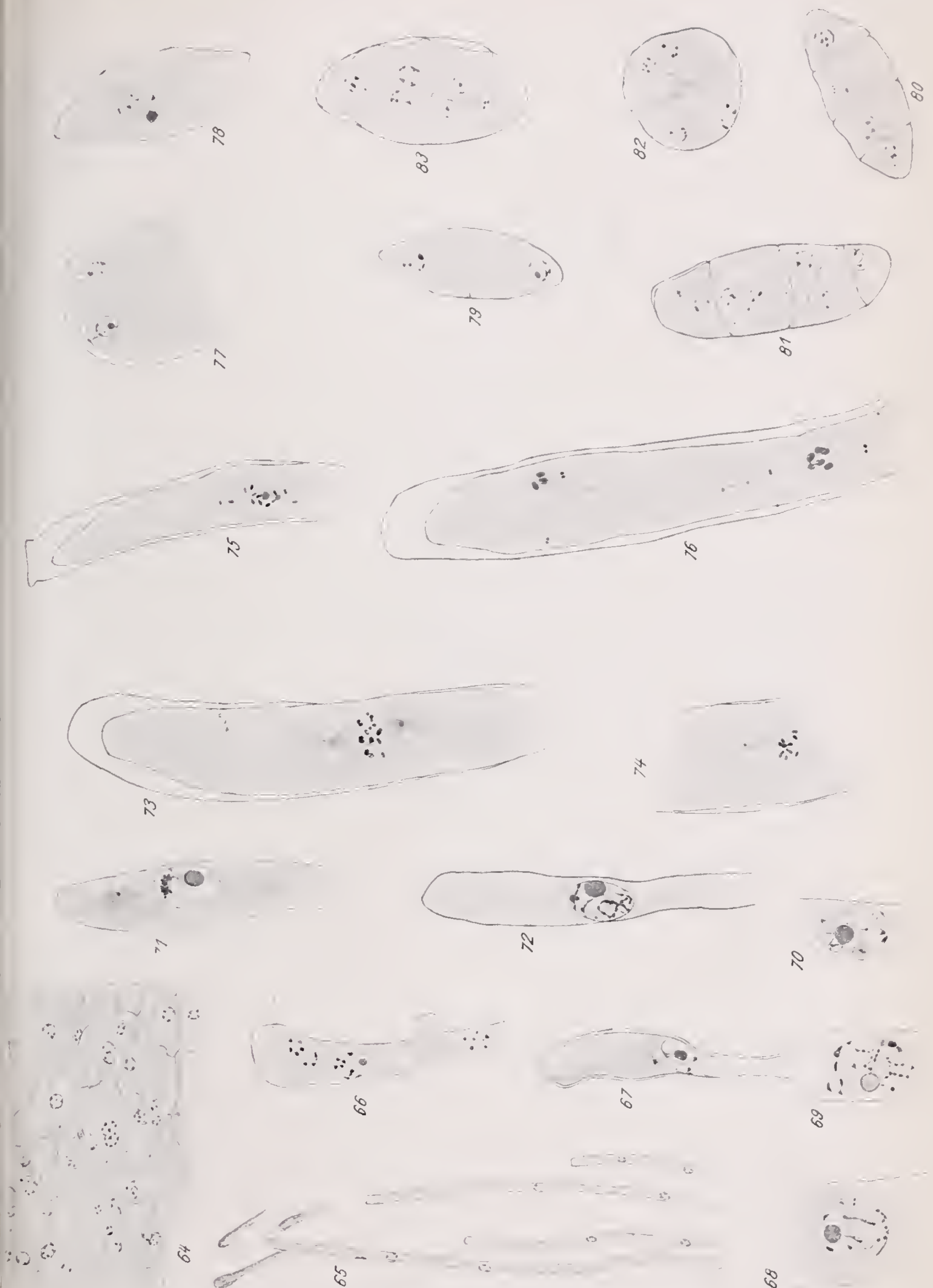


Bachmann. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.


44
45
46
47
48
a
49
a
b
50
a
b
c
d
e
51
52



Bachmann. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.



Bachmann. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.

Über die Nucleasewirkung auf tierische Zellen.

Ein Beitrag zur Chromidienfrage.

Von

Dr. M. A. van Herwerden.

(Aus dem Physiologischen Laboratorium der Universität Utrecht.)

Mit 14 Textfiguren.

Während eines Aufenthaltes an der Zoologischen Station in Neapel im Frühjahr 1911 habe ich mir die Frage vorgelegt, ob es auf irgendeinem Wege möglich sei, die chemische Zusammensetzung der von morphologischer Seite vielfach nachgewiesenen Chromidien der Eizellen annähernd kennen zu lernen.

Direkter Anlaß zu dieser Fragestellung waren die damals neu erschienenen Arbeiten Schaxels über die Chromatinemission bei Ascidien[1]), Cölenteraten[2]) und Echinodermen[3]). Beobachtungen an fixierten Präparaten hatten diesen Forscher zur Annahme eines Chromatinaustrittes aus dem Kern ins Zellplasma geführt. Besonders die letztgenannte Veröffentlichung hatte mein Interesse erregt, weil durch den Nachweis der Sistierung dieses Emissionsprozesses während der Furchung bis zur Bildung der ersten Mesenchymzellen, die Möglichkeit eröffnet war, auf die Ursachen der bis zum Gastrulastadium dauernden mütterlichen Veranlagung der von Godlewski[4]) aus kernlosen Eifragmenten nach Kreuzbefruchtung kultivierten Bastardlarven ein neues Licht zu werfen.

Bekanntlich bewegte sich Schaxel auf ausschließlich morphologischem Gebiete. Daß er auf die üblichen chemischen Prüfungen zur Auf-

---

[1]) Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. S. 265. 1910.
[2]) Zool. Jahrb. Bd. XXXI. S. 337. 1911.
[3]) Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVI. S. 543. 1911.
[4]) Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. XX. S. 579. 1906.

klärung der betreffenden Fragen kein großes Gewicht legt, wird jedem, der sich der primitiven Natur unsrer Versuche an die lebende Substanz mikrochemisch heranzutreten bewußt ist, verständlich sein[1]). Trotzdem wird wohl kein Biologe verneinen, daß für das wichtige cytologische Problem der Chromidien nie von rein morphologischer Seite eine endgültige Lösung zu erwarten ist, und daß in der ganzen cytologischen Literatur der letzten Jahre es nur die vereinzelten Fälle des bei Protozoen während des Lebens beobachteten Austrittes der Kernsubstanz sind, welche uns eine absolut einwandfreie Tatsache geliefert haben.

Spüren wir kritisch nach, auf welche Beweisgründe man die im Cytoplasma in der Umgebung des Kernes gelagerte Substanz als »extranucleäres Chromatin« betrachtet, so treffen uns die naiven Versuche zur Bestätigung dieser Auffassung. Bei dem jetzigen Stand unsrer Kenntnis über die Farbtechnik kann doch schwerlich aus der übereinstimmenden Farbstoffaufnahme auf die Identität beider Substanzen geschlossen werden; ebensowenig läßt ihr übereinstimmendes Verhalten gewissen Säuren, Alkalien und Salzen gegenüber irgendwelche Folgerung zu. Bleibt noch die Pepsin- und Trypsinverdauung übrig, welche zu keinen eindeutigen Resultaten führt — und die Reihe dieser Beweisgründe ist schon erschöpft.

Es gibt aber Forscher, welche den Begriff Chromatin dermaßen rein morphologisch auffassen, daß sie vollkommen von seiner chemischen Zusammensetzung abstrahieren, jeden Versuch in dieser Richtung zur Seite lassen, und bloß aus dem anatomischen Bilde, also aus den topographischen Verhältnissen in ihren fixierten Präparaten, den Übertritt der chromatischen Substanz ins Zellplasma als festgestellt betrachten. Doch in welche theoretisch verwickelten Vorstellungen auch diese Forscher ihre Auffassung hüllen, auch bei ihnen ist es doch wohl schließlich die übereinstimmende Farbstoffaufnahme, welche den Ausgangspunkt bildet, denn fehlte diese identische Färbung, die Emissionshypothese wäre vermutlich nie geboren.

Ohne Zweifel gehen wir fehl, wenn wir das Chromatin als chemischen Körper betrachten wollen, und es ist auf diesem Gebiete wohl keine größere Verwirrung gestiftet worden als von jenen Autoren, welche, wie es noch Wilson in der letzten Ausgabe seines schönen cytologischen Handbuchs tut (S. 332, 1911), das Chromatin mit dem Nuclein gleich stellen. Anderseits wissen wir, daß seit den hervorragenden Untersuchungen Mieschers und Kossels für das Chromatin die Periode der chemischen

---

[1]) Schaxel: Anat. Anz. Bd. XXXIX. 1911: S. 337; Zool. Jahrb. Bd. XXXIV. 1912. S. 381.

Analyse angefangen hat und daß — in wie weiter Entfernung seine Synthese liegen möge — der physiologisch gebildete Forscher den Begriff Chromatin nicht mehr von seinen chemischen Bestandteilen abstrahieren kann.

Die chemische Untersuchung am isolierten Kernmaterial hat bekanntlich makroskopisch die an Eiweißkörpern gebundene Nucleinsäure als Hauptbestandteil der chromatischen Substanz des Zellkernes nachgewiesen. Die erste Frage, die zur Förderung unsrer Kenntnis der sogenannten Chromidien gelöst werden müßte, wäre also die folgende: Sind auch diese Elemente aus Nucleinkörpern aufgebaut?

Tatsächlich ist diese Frage von verschiedenen Autoren in positivem Sinn beantwortet worden und doch darf man sagen, daß bis heute jeder wirkliche Beweis in dieser Hinsicht vollkommen fehlt. Dies gilt sowohl für die basophilen Tigroidschollen der Ganglienzellen als für die Chromidien der heutigen Autoren. Ihre Löslichkeit in Alkali, ihre Fällung durch verdünnte Essigsäure, ihre Basophilität in fixierten Präparaten, wird doch wohl kaum jemand als eine specifische Reaktion auf Nucleinkörper anerkennen!

Seit unsrer Kenntnis über die enzymatische Spaltung der Nucleoproteiden gibt es aber ein andres Mittel, uns auf diesem Gebiete einwandfrei zu orientieren. Es wäre denkbar, daß durch die Nuclease Nucleinkörper, welche — der Unmöglichkeit einer Isolierung wegen — einer chemischen Analyse in vitro nicht zugänglich sind, im mikroskopischen Präparat angegriffen werden könnten.

Ich habe persönlich Untersuchungen in dieser Richtung angestellt. Die enzymatische Spaltung der Nucleinsäure wurde zuerst von Oes[1]) in der botanischen mikroskopischen Technik eingeführt. Seine Untersuchung bezieht sich hauptsächlich auf die Autolyse des pflanzlichen Zellkernes, doch hat er ebenfalls schon die Lösung von Chromosomen unter Einfluß von pflanzlichen Organextrakten nachgewiesen. Sehr wahrscheinlich handelt es sich hier um eine Nucleasewirkung; der Beweis wäre nur durch Kontrollversuche mit Nucleinsäurespaltung geliefert, welche nicht von Oes erwähnt sind, was vermutlich auch Nemec[2]) in seinem jüngst erschienenen Handbuch (S. 319) veranlaßt, die von Oes gegebene Erklärung, daß es sich bei seinen Versuchen um ein chromatinlösendes Enzym handelt, vorläufig nur als eine wahrscheinlich richtige anzunehmen.

---

[1]) Botan. Zeitung 1908; Zeitschr. f. Botanik 1910.

[2]) Das Problem der Befruchtungsvorgänge. 1910.

Die von mir benutzte Nuclease wurde nach der Methode von Sachs[1]) anfänglich aus dem Pankreas, später — und das gilt für alle hier beschriebenen Versuche — ausschließlich aus der Milz des Rindes hergestellt und ihre Wirksamkeit auf nucleinsaures Natrium geprüft. Der verdünnte Preßsaft dieses fein zerhackten Organs wird nach Sachs mit Ammoniumsulfat gesättigt, nachträglich mit Alkohol gewaschen und getrocknet. Da die wiederholte Alkoholbehandlung die Enzymwirkung herabsetzt, habe ich in späteren Versuchen die mit Ammoniumsulfat gefällte, getrocknete Substanz aufbewahrt, und vor dem Gebrauch 24 Stunden dialysiert, wobei sie nur teilweise in Lösung geht, und es der gelöste Teil des Dialysatorinhalts ist, welcher das Enzym enthält. Die Milz ist dem Pankreas vorzuziehen, weil im letzteren Falle die Anwesenheit des Trypsins nicht ausgeschlossen ist. Auch die im Milzpreßsaft mit schwacher Essigsäure gefällten Nucleoproteiden enthalten eine wirksame Nuclease.

Das nucleinsaure Natrium wurde nach der Methode von Neumann[2]) aus der Milz bereitet und die Verflüssigung der gelatinierenden α-Säure und ihre Abspaltung von Phosphorsäure unter dem Einfluß des obengenannten Enzyms nachgewiesen. Es handelt sich also tatsächlich um eine Nuclease, welche als Reagens auf eventuell im Zellkörper anwesende Nucleinsäureverbindungen benutzt werden konnte.

Anfänglich wurde der Versuch gemacht, lebende Zellen dieser Verdauungsprobe zu unterwerfen. Zu diesem Zwecke wurde die nucleasehaltende Substanz mit Seewasser gemischt, in welchem ein kleines Ovarialfragment von *Strongylocentrotus lividus*, dem lebenden Tiere entnommen, übertragen war. Die ohne Ausnahme während 24 stündigen Verbleibens bei einer Temperatur von 38° auftretende Autolyse — auch ohne Zusatz der Nuclease — macht aber die nicht abgetöteten Zellen für ähnliche Versuche ungeeignet. Überdies hemmt das Seewasser die Nucleasewirkung in bedeutendem Grade.

Weil die vorhergehende Fixation in Pikrinessigsäure, Sublimat-, Chromat- oder Formolgemischen die Präparate der Nucleasewirkung unzugänglich macht, wurde weiter ausschließlich in warmem oder kaltem Alkohol oder in kochendem Wasser fixiert. Es versteht sich, daß die Konservierung im letztgenannten Fall meistens zu wünschen übrig läßt; ungeachtet dessen besitze ich ein Paar Heißwasserpräparate, in welchen nebst manchen deformierten Zellen gut fixierte reife Eier und große Oocyten nachzuweisen sind.

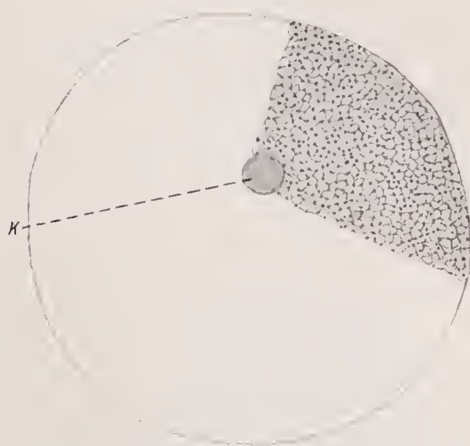
---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLVI. 1905. S. 337.

[2]) Hoppe-Seylers Handbuch d. physiol. und path.-chem. Analyse. 8. Aufl. Berlin 1909. S. 480.

Untersucht man die reifen Eier von Echiniden und Holothurien — und dasselbe gilt für alle die oben genannten Fixationsmethoden — so trifft uns überall die alveoläre Struktur des Zellinhaltes mit Einlagerung von äußerst feinen regelmäßig über die Wabenwände zerstreuten basophilen Körnern. Für das reife Ei von *Strongylocentrotus* habe ich in Fig. 1 diese Struktur, welche den Forschern der Echinodermeneibildung bekannt ist, abgebildet. Am deutlichsten tritt sie in Alkoholpräparaten hervor, während z. B. in FLEMMINGS Gemisch die Dotterkugeln die Alveolarwände und ihre Einschlüsse, besonders bei den Holothurieneiern, mehr oder weniger maskieren.

Textfig. 1[1].



Reifes Ei mit basophilen Körnern, welche den Wabenwänden des Zellplasmas eingelagert sind. *K* = Kern.

Legt man einen Paraffindurchschnitt eines in Alkohol oder in heißem Wasser fixierten Ovariums bei einer Temperatur von 38° in eine neutrale Lösung, welche Nuclease enthält, so sind nach Verlauf von 24 Stunden die basophilen Körner in allen reifen Eizellen verschwunden, wie es die Fig. 2 für *Strongylocentrotus* angibt, während der übrige Teil der Zelle intakt bleibt.

Textfig. 2.



Reifes Ei nach 24stündiger Nucleasewirkung. Die basophilen Körner sind verschwunden.

Fig. 1 und 2 sind Präparaten entnommen, welche beide während

[1]) Fig. 1—5 sind Durchschnitten von in 70%igem Alkohol fixierten Ovarialfragmenten von *Strongylocentrotus lividus* entnommen. Hämalaunfärbung während 15 Minuten. Vergr. 1000×.

15 Minuten in derselben Hämalaunlösung gefärbt sind. Kontrollversuche bei derselben Temperatur in Wasser fallen ausnahmslos negativ aus. Auch hat die bis zum Kochpunkt erhitzte nucleasehaltende Flüssigkeit jede Wirkung verloren.

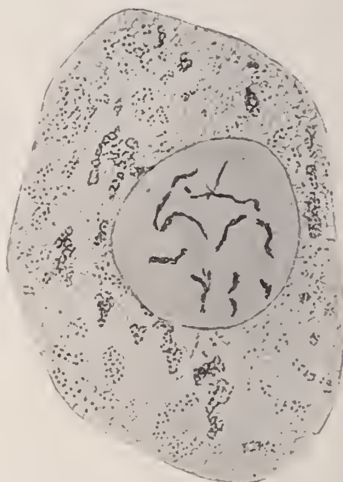
Dieser einfache Versuch genügt uns zu überzeugen, daß in den reifen Eizellen die basophilen Körner aus einer Nucleinsäureverbindung bestehen, was bisher noch niemals einwandfrei nachgewiesen wurde.

Aus den Untersuchungen von Masing[1]) geht hervor, daß das reife

Textfig. 3.



Textfig. 4.



Große Oocyten vor der Bildung der Polkörperchen. Chromidien aus basophilen Körnern aufgebaut, in Fig. 3 besonders in der Umgebung des Kernes augehäuft.

Ei der Echinodermen mit seinem winzigen Kerne schon gleich viel Nucleinsäure enthält wie das bis zur Morula gefurchte Ei, in welchem die Kernmasse ums Hundertfache zugenommen hat. Es interessiert uns hier, die Hauptträger dieses chemischen Körpers mikrochemisch kennen zu lernen. Daß diese Körner keine Fällungsprodukte im fixierten Präparate sind, geht aus meiner Untersuchung am lebenden Objekt hervor, wo sie als glänzende, stark lichtbrechende Körnchen bei *Holothuria* an denselben Stellen zu erkennen sind.

Richten wir jetzt unsre Aufmerksamkeit auf die großen Oocyten der Echiniden vor der Bildung der Polkörperchen. Da fällt uns im Alkohol-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. LXVII. 1910. S. 161.

präparat sofort die charakteristische Struktur auf, welche BOUIN[1]) zum ersten Mal bei dem Seesterne *Asterias* als »Ergastoplasma« beschrieben hat, eine unregelmäßige Ansammlung von basophilen Körnchen und Streifen am dichtesten in der Umgebung des Kernes gelagert, die Chromidien der jetzigen Autoren (Fig. 3 u. 4).

Unterwerfen wir diese Zellen derselben Nucleasebehandlung, welche wir für die reifen Eier anwendeten, so sind nach 24stündiger Verdauung diese Chromidien gänzlich, oder — falls die Wirkung eine schwächere war — größtenteils verschwunden. Das Zellplasma färbt sich auch nach sehr langdauernder Hämalaunfärbung homogen grau, die basophilen Körner sind nicht mehr zu entdecken (Fig. 5). Im Kerne dagegen bleiben die Chromatineinlagerungen und der Nucleolus[2]) auch nach längerer Nucleasewirkung mit Hämalaun oder Safranin gefärbt, obwohl ihre Basophilie in sehr beträchtlicher Weise abgenommen hat. In geringerem Grade als die Chromidien werden also auch diese Elemente von der Nuclease angegriffen.

Textfig. 5.



Großer Oocyt nach 24stündiger Nucleasewirkung. Die Chromidien sind verschwunden. Das Chromatin im Kern ist blasser gefärbt.

Betrachten wir die Chromidien am unverdauten Präparate genauer, so bemerken wir, daß sie aus denselben basophilen Körnern aufgebaut sind, welche wir am reifen Ei beschrieben haben; nur sind dieselben in der Umgebung des Kernes eng zusammengedrängt, den Wabenwänden entlang dicht nebeneinander gereiht. Im äußeren Drittel der Eizelle dagegen sind die basophilen Körner äußerst spärlich vertreten, oder können gänzlich fehlen. Diese Chromidien

[1]) Bibliographie Anat. de Nantes. 1897—1898. — Arch. de Zool exp. T. III. Série IV. p. 99. 1904—05.

[2]) Bekanntlich nimmt der sogenannte Nucleolus der Echinodermeneier basische Farbstoffe auf, ist also in der Hinsicht nicht vergleichbar mit dem zuerst als Nucleoleus beschriebenen ausschließlich acidophilen Kernkörper der meisten somatischen Zellen (dem Plasmosoma WILSONS). Den jetzt in der Cytologie eingebürgerten Namen Nucleolus als Allgemeinbegriff werde auch ich beibehalten, obwohl ich mir von der physiologischen Verschiedenheit der unter diesem Namen zusammengefaßten Elemente wohl bewußt bin.

der Cytologen sind also aus Nucleinsäureverbindungen aufgebaut, eine Tatsache, die man wohl vermutet, nie aber bewiesen hat. Die Verbindung der Nucleinsäure mit Eiweißkörpern wird vermutlich in diesen Elementen eine weniger feste als diejenige im Kernchromatin sein, weil Versuche, das Chromatin vollkommen anzugreifen, im Ovarium der Echinodermen bis heute nicht gelangen. Die Möglichkeit, durch eine Vorverdauung mit Pepsinsalzsäure die Nucleoproteiden des Chromatins zu spalten und hierdurch der Nucleasewirkung besser zugänglich zu machen, schlug fehl durch die augenblickliche Lösung des übrigen Kerninhaltes bei der Pepsinverdauung, welche ein Mitschleppen der ungelösten Chromatinklümpchen und auch öfters des Nucleolus verursachte und die Kernmembran inhaltlos zurück ließ.

Textfig. 6.



Großer Oocyt von *Sphaerechinus granularis* nach dem Leben gezeichnet. Die ursprünglich über das ganze Zellplasma zerstreuten Körner zeigen nach beginnender Eintrocknung des Präparates lokale Anhäufungen, von hyalinen Streifen abgewechselt. Der äußerste Randbezirk ist fast körnerfrei geworden. Vergr. 400 ×.

Welche Bedeutung hat jetzt die dichte Anhäufung der basophilen Körner dieser großen Oocyten in der unmittelbaren Umgebung des Kernes? Ist es ganz sichergestellt, daß sie der Ausdruck eines in früheren Phasen der Eireifung stattgefundenen Austrittes von Kernbestandteilen ins Zellplasma ist?

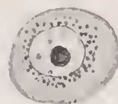
Die Beobachtung der lebenden Ovarien von *Strongylocentrotus lividus*, *Sphaerechinus granularis* und *Echinus microtuberculatus* hat großen Zweifel in dieser Hinsicht bei mir erregt und hält mich zurück, mich dieser Auffassung anzuschließen.

Untersucht man nämlich die lebensfrischen Oocyten der obengenannten Echiniden in Seewasser unter dem Mikroskop bei stärkerer Vergrößerung, so entdeckt man anfangs im frisch bereiteten Präparate keine, oder nur ausnahmsweise eine Zelle, welche dem Bilde der fixierten Durchschnitte entspricht: das Zellplasma der großen Oocyten hat eine körnige Struktur, die überall denselben Charakter trägt. Sobald aber das Präparat mehrere Minuten unter dem Deckglas liegt, zeigen sich in der Umgebung des Kernes hyaline Streifen von eng zusammengehäuften Körnerreihen abgewechselt, während an der Peripherie der Zelle ein körnerfreies Gebiet sichtbar wird, ein Bild, das unserm Alkoholpräparate ähnlich sieht. Eine solche nach dem Leben gezeichnete Eizelle bilde ich in Fig. 6 ab. Auch als ich mit andern Zwecken eine 10%ige Lösung von

Pyrogallol dem Präparate zusetzte, trat dieselbe Struktur plötzlich zum Vorschein.

Es wäre also sehr gut denkbar, daß die charakteristische Chromidienstruktur, welche nicht nur nach der Alkoholfixation, sondern nach verschiedenen Konservierungsmethoden mehr oder weniger zutage tritt, ein Kunstprodukt ist, in dem Sinne, daß durch Störungen osmotischer Natur entweder im Zellkörper selbst beim Absterben erweckt, oder durch die Eintrocknung des umgebenden Mediums veranlaßt, nucleinkörpertragende Körner ihre regelmäßige Verbreitung über die Eizelle aufgeben und lokale Anhäufungen bilden, welche sich besonders in der Umgebung des Kernes konzentrieren. Für diese Auffassung erblicke ich eine weitere Stütze in dem Befunde, daß in einigen der am besten in Flemmings oder Zenkers Gemisch fixierten Präparaten der größte Teil der in diesem Studium verweilenden großen Oocyten ausschließlich eine regelmäßige Ausstreuung der basophilen Körner über das ganze Zellplasma nachweisen ließen, und daß weiter bei den Holothurien auch im fixierten Präparate diese eigentümliche Lokalisation nur ausnahmsweise gefunden wurde, und wo sie auftrat, dies gerade an den am wenigsten gut fixierten Stellen des Präparates war[1]).

Textfig. 7.



Junger Oocyt von *Sphaerechinus granularis* nach dem Leben gezeichnet. Kleine, stark lichtbrechende Körner in dem Umkreis des Kernes. Im Kerne außer dem Nucleolus blasse, wenig stark lichtbrechende Flecke und Körner. Vergr. 600×.

Ich halte also die Chromidienstruktur dieser Zellen für ein Kunstprodukt. Die Herkunft und die Bedeutung der basophilen Körner in den Eizellen, welche die Bausteine dieser Chromidien bilden, ist aber natürlich eine Frage für sich, welche von den obigen Betrachtungen nicht angegriffen wird.

Woher stammen diese basophilen Körner? Werden sie im Zellplasma selbst gebildet, oder müssen sie tatsächlich als eine aus dem Kern getretene Substanz aufgefaßt werden? Wie gesagt, gibt die um den Kern zentrierte Lage dieser Elemente in den großen Oocyten uns aus den obenerwähnten Gründen keinerlei Beweis für ihre Herkunft.

Betrachten wir zur Erläuterung dieser Frage am frischen, in der Körperflüssigkeit des Tieres zerzupften, mit Paraffin umrahmten Ovarialpräparat die Oogonien und die jüngsten Oocyten von *Sphaerechinus*

[1]) Für die Betrachtung der Chromidien als Kunstprodukt verweise ich auf die Arbeit Lundegårds (Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. LXVIII. 1910, S. 289), der in Meristemzellen von *Vicia faba* chromidienähnliche Gebilde durch künstliche Verschmelzung von Leucoplasten auftreten sah.

und *Strongylocentrotus*, so finden wir Zellen, welche bei einer 600maligen Vergrößerung noch keine Körner im Zellplasma unterscheiden lassen nebst andern, bei welchen in dem unmittelbaren Umkreis des Kernes äußerst stark lichtbrechende Körnchen in relativ geringer Zahl eingelagert sind (Fig. 7). Entweder sind sie an einem Pol angehäuft, oder wir treffen sie im ganzen Umkreis des Kernes an. In Seewasser oder in isotonischem Manganochlorid gelöstes Dahliaviolett wird von diesen Körnchen vital aufgenommen, während es nicht gelang, sie mit Neutralrot oder Methylenblau zu färben.

Richtet man seine Aufmerksamkeit auf den Kern, so erblickt man besonders bei *Sphaerechinus* außer dem stark lichtbrechenden Nucleolus, etwas schwächer lichtbrechende Flecke und Körnchen, von welchen einzelne bei genauer Betrachtung sich langsam im Kernplasma verschieben; erreichen sie, vielfach aus dem Gebiet des Nucleolus abströmend, die Kernmembran, so sieht man bisweilen, wie sie plötzlich an dieser Stelle verschwinden, und daß mit diesem Schwund gleichzeitig eine peripher gerichtete Verschiebung einiger der extranucleär gelagerten Körner zusammengeht. Obgleich ein direkter Übertritt von Kernelementen nie von mir beobachtet wurde, spricht dieser letzte Befund vielleicht für die Annahme einer Diffusion von gelöster Substanz aus dem Kerne, welcher Austritt eine Strömung im Cytoplasma und damit verbunden eine Verschiebung der dort schon anwesenden festen Elemente erweckt.

Setzt man 1%ige Essigsäure dem Präparate zu, so erblickt man die obengenannten jetzt stark lichtbrechenden Kerneinschlüsse auf den Fäden eines feinen Reticulums gelagert. In den großen, der Reifung nahestehenden Oocyten wurden diese Elemente im lebenden Präparat nicht gefunden und in den allerjüngsten Oocyten, welche äußerst geringe Dimensionen haben, wird die Beobachtung zu sehr erschwert, weil es meistenfalls nicht tunlich ist zu bestimmen, ob ein Körnchen im Kerne oder ein wenig außerhalb des Brennpunktes im Cytoplasma liegt.

Mit welcher Sorgfalt diese Präparate auch gegen Eintrocknung geschützt sind, darf doch nicht vergessen werden, daß die untersuchten zarten Oocyten nicht mehr unter denselben Verhältnissen als im lebenden Organismus sind, und deshalb möchte ich diese Beobachtung für sich nicht als einen absoluten Beweis gelten lassen, daß tatsächlich in den *Sphaerechinus*-Oocyten sichtbare Elemente aus dem Kerne ins Cytoplasma übertreten. Gegen die Auffassung, daß es osmotische Störungen in einer absterbenden Zelle seien, spricht aber der Befund, daß der Prozeß im allerersten Anfang deutlicher in Erscheinung trat als nachdem das Präparat während einiger Zeit aufbewahrt war. Man könnte sich schwerlich vorstellen, daß die

Zellen, welche im selben Medium und bei derselben Temperatur als diejenige des lebenden Organismus verweilen, so schnell absterben würden.

Ein Versuch ebenfalls bei den jungen Mesenchymzellen der Gastrulalarven, welche sich sehr leicht isolieren lassen, und wo man deutlich die von Schaxel am fixierten Präparat beschriebenen Körnchen im lebenden Cytoplasma beobachtet, der Herkunft dieser Elemente während des Lebens nachzuforschen, scheiterte durch die kleine Dimension dieser Zellen.

Welche Vorsicht übrigens geboten ist, die Erscheinungen am frischen Präparat als Lebenserscheinungen aufzufassen, geht aus der Beschreibung der Kernbewegungen hervor, welche ich wiederholt bei Echinideneizellen antraf: Sobald man von Zeit zu Zeit Kamerazeichnungen von einem und demselben Oocyt macht, bemerkt man, daß der Kern durch eine Rotation um die eigne Achse seine Lage im Cytoplasma wechselt. Man überzeugt sich von dieser Rotation durch die Beobachtung des Platzes, welcher der Nucleolus bestimmten Stellen im Kern und im Zellplasma gegenüber einnimmt. Natürlich braucht man zu dieser Untersuchung Oocyten, in welchen sowohl außerhalb der Zelle als im Kern und im Cytoplasma feste Punkte erkennbar sind, so daß die Rotation der Zelle selbst und ein Platzwechsel des Nucleolus ausgeschlossen werden können. Auch müssen Strömungen im umgebenden Medium überhaupt fehlen. Diese Rotation des Kernes ist eine äußerst langsame, beträgt kaum 90° in einer Stunde. Anfangs für eine Lebenserscheinung gehalten, mußte doch später die große Unregelmäßigkeit dieser Rotation, ihr Fehlen in dem größten Teil der Eizellen zur Überlegung führen, daß Diffusionsströmungen in der Zelle selbst bei dem Absterben des Protoplasmas erweckt, für diese Erscheinung verantwortlich sind. Eine ähnliche Beobachtung verbietet uns, den oben erwähnten, am lebenden Präparate studierten Prozessen im Kerne einen zu großen Wert zuzuschreiben.

Neben den Ovarien der Echinodermen habe ich auch die Eier von *Ciona intestinalis*, welche ebenfalls für Schaxel[1]) einen Beitrag zu seiner Emissionshypothese geliefert haben, während des Lebens untersucht. Im Kern der jungen Oocyten sind außer dem Nucleolus keine Körnchen wie die bei *Sphaerechinus* beschriebenen zu entdecken; das übrigens homogene Zellplasma enthält lokale Anhäufungen von feinsten Körnchen, welche in den älteren Oocyten zahlreicher und größer sind und sich schließlich über die ganze Eizelle ausbreiten. Bemerkenswert sind die schon von andern Autoren erwähnten, dem Kern angelagerten Elemente, welche sich im fixierten Präparat stark mit basischen Anilinfarbstoffen färben

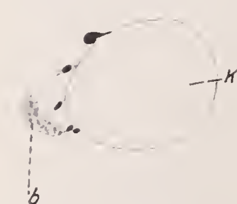
---

[1]) Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910. S. 265.

und deswegen und besonders durch ihre Lokalisation SCHAXEL Anlaß gaben, sie als »extranucleäres Chromatin« zu betrachten und vollkommen mit den Chromatinemissionsprodukten der Echinodermeneizellen zu identifizieren. Sowohl von FLODERUS[1]) als in späterer Zeit von LOYEZ[2]) wurden sie als »extranucleäre Nucleoli« beschrieben, weil sie öfters an Stellen aufgefunden wurden, wo der Nucleolus der Kernmembran dicht angelagert war. Anfangs im Zellplasma lokal in der unmittelbaren Umgebung des Kernes angehäuft, verbreiten sie sich in späteren Stadien über das ganze Zellplasma (Fig. 8—11).

Im lebenden Präparat sind diese Elemente kaum als blasse Flecke zu erkennen. Das ist wohl die Ursache, daß SOMMER[3]) in einer Arbeit, welche den frisch untersuchten *Ciona*-Oocyten gewidmet war, sie übersehen hat. Sobald man aber 1%ige Essigsäure dem Ovarium zusetzt, treten sie äußerst scharf zum Vorschein. Daß man hier nicht mit cytoplasmatischen, nur dem Kern angelagerten Elementen zu tun hat, sondern mit richtigen Kernanhängen, welche nicht selten mit einem dünneren Stiel mit der Kernmembran verbunden sind, ergibt sich, wenn man einzelne Kerne nach Essigsäurezusatz durch Zerzupfen des Präparats isoliert. Als ich mit andern Zwecken ein frisches Ovarialfragment mit 3%igem Fluornatrium behandelte, und 12 Stunden später untersuchte, war der Zusammenhang zwischen diesen Elementen und der Kernmembran noch deutlich zu erkennen; der ganze Zellkörper hatte sich gelöst, während die frei im flüssigen Medium hin und her bewegten Kerne bläschenförmige Anhänge hatten.

Textfig. 8.



Kern mit Anhängen eines Oocyten aus dem Ovarium von *Ciona intestinalis*. Fixation und Färbung nach BENDA. Die Kernanlagerungen sind dunkelviolett gefärbt nach Entfärbung der übrigen Zellteile. Bei *b* eine hellviolette wolkige Substanz in Zusammenhang mit zwei dieser Elemente. k = Kern. Vergr. 1000 ×.

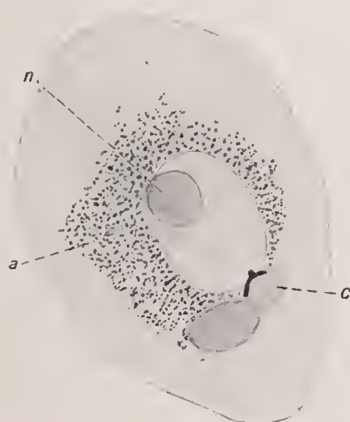
Es stellte sich heraus, daß diese Gebilde eine große Resistenz chemischen Reagenzien gegenüber haben. So bleiben sie z. B in 15%iger Salzsäure erhalten, während der Kerninhalt mit dem Nucleolus schon ganz verschwunden ist. Im Alkoholpräparat bieten sie sogar einer 24stündigen Behandlung mit 25%iger Salzsäure Widerstand. Zusatz von 1%iger Lösung von Natriumcarbonat macht im frischen Ovarium den ganzen Kern und ebenfalls die extranucleären Körperchen unsicht-

1) Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXI. 1896.
2) Comptes rendus de l'Association Anat. de Nantes. 1909.
3) Anat. Anz. Bd. XXVI. 1905. S. 1.

bar; wenn man aber 10 Minuten nachher das Präparat auswäscht und 1%ige Essigsäure zusetzt, treten diese letzten im Gegensatz zu dem Nucleolus wieder zutage, als wäre keine andre Behandlung vorhergegangen.

In älteren Oocyten von *Ciona intestinalis* liegen öfters im Zellplasma runde Körperchen, welche im genetischen Verband mit diesen Kernanhängen stehen, wie sich an fixierten Präparaten in vielen Übergangsstadien demonstrieren läßt. Für eine detaillierte Beschreibung verweise ich auf die Arbeit von Floderus und Loyez und setze selbst einige, meinen fixierten Präparaten entnommene Abbildungen hinzu, welche

Textfig. 9.



Textfig. 10.



Fig. 9. Großer Oocyt von *Ciona intestinalis*. Fixation und Färbung nach Benda. Hellviolett gefärbte extranucleäre Körper durch dunkelviolette Stiele in Zusammenhang mit der Kernmembran, in deren Umkreis feine Körner liegen (*a*), welche bei kurzer Entfärbung mit Essigsäure das Kristallviolett festgehalten haben. Vergr. 1000 ×. — Fig. 10. Wie Fig. 9 nach längerer Entfärbung in starker Essigsäure. Die Körner im Umkreis der Kerne sind sehr schwach gefärbt, die Kernanhänge dagegen dunkelviolett. Vergr. 1000 ×.

teilweise mit der Bendaschen Mitochondrienmethode, teilweise mit Flemmings Gemisch und nachfolgender Safraninfärbung behandelt sind (Fig. 9—11). Während der Nucleolus mit dieser ersteren Methode gelblich gefärbt wird, nehmen die extranucleären Körper ausnahmslos Kristallviolett auf, also die nach Benda charakteristische Mitochondrienfärbung, während die auch im lebenden Präparate sichtbaren feinen Körner in der Umgebung des Kernes (*a*, Fig. 9) sich ebenfalls violett färben, den Farbstoff aber schneller bei der Differenzierung in starker Essigsäure wieder abgeben. Es sind diese letzteren Elemente, welche von Loyez als Mitochondrien gedeutet sind. Aus den übrigens scharf begrenzten dunkelvioletten Kernanhängen fließt bisweilen eine wolkige hellviolette

Substanz (*b*, Fig. 8) oder sie bilden bloß kurze Stiele, welche mit größeren blasser gefärbten Körpern in Zusammenhang stehen (*c*, Fig. 9).

Nebenbei sei bemerkt, wie wenig specifisch diese BENDAsche Färbmethode ist, wie wenig sichergestellt ist, daß alles, was sich nach BENDA mit Kristallviolett färbt, identische Elemente sind. Bei vollkommener Entfärbung des übrigen Zellkörpers, finde ich in meinen BENDA-Präparaten (nach der letzten Angabe in der Encyclopädie der mikroskopischen Technik behandelt) sowohl die Kernanhänge wie die bei *a*, Fig. 9 abgebildeten feinen Körner in der Umgebung des Kernes violett gefärbt; sogar halten, wie gesagt, die erstgenannten nach längerer Entfärbung in starker Essigsäure das Kristallviolett noch fest, wenn die Körner schon jede violette Farbe verloren haben.

Textfig. 11.



Oocyt von *Ciona intestinalis*. Fixation nach FLEMMING, Färbung mit Safranin. Die Kernanhänge sind dunkelrot gefärbt. n = Nucleolus. Vergr. 1000 ×.

Nach SCHAXEL bleiben im Gegenteil ausschließlich diese feinen zerstreuten Körner nach BENDA violett gefärbt, welche er deshalb mit LOYEZ als Mitochondrien anerkennt, während er die »Nucléoles cytoplasmiques« LOYEZ', d. h. unsre Kernanhänge als »extranucleäres Chromatin« bezeichnet und mit den bei den Echinodermen gefundenen Chromidien identifiziert.

Wie ein ähnlicher Allgemeinbegriff als »extranucleäres Chromatin« auf falsche Wege führen kann, wird jetzt deutlich durch die Nucleasewirkung zutage gefördert. Es stellte sich nämlich heraus, daß die obenerwähnten Elemente von *Ciona* im Gegensatz zu den basophilen kleinen Körnern der Echinodermeneizellen im Alkoholpräparat der Nuclease vollkommen Widerstand leisten, also, falls sie Nucleinsäure enthalten — was noch sehr fraglich ist, denn in Hämalaun und Pikrinsäure werden sie gelblich gefärbt — jedenfalls die Säure in einer ganz andern Verbindung mit Eiweiß tragen als die Körner, welche sich bei der Nucleasewirkung lösen.

Eine Identifizierung dieser Kernanhänge von *Ciona* mit den Chromidien-Bausteinen der Echinodermen ist also nicht gestattet. Vielmehr wären die Kernanlagerungen bei *Ciona*, für deren genetischen Zusammenhang mit dem Kern, wie wir gesehen haben, vieles spricht, in Übereinstimmung mit homogenen, ebenfalls wenig stark lichtbrechenden Körperchen zu bringen, welche man bei *Holothuria tubulosa* am Kern angeschmiegt

(Fig. 12) und in späteren Stadien im Zellplasma verbreitet nachweisen kann (*e*. Fig. 13). Ihren topographischen Verhältnissen nach entsprechen diese den Dotterkernen, wie sie an Eizellen andrer Tierarten öfters beschrieben sind. Auch diese Elemente leisten im Alkoholpräparat der Nucleaseverdauung (Fig. 14), ja sogar einer 24stündigen Behandlung mit 25%iger Salzsäure Widerstand. Sie nehmen nach der BENDAschen Behandlung Kristallviolett, nach FLEMMING fixiert Safranin auf, während sie in derselben Weise wie die fraglichen *Ciona*-Körperchen in Alkoholpräparaten nach Doppelfärbung mit Hämalaun und Pikrinsäure gelblich tingiert sind. Daß diese Gebilde in den Eizellen der Holothurien ganz unabhängig von den oben bei demselben Tiere beschriebenen, den Wabenwänden eingelagerten basophilen Körnern sind, davon habe ich mich wiederholte Male überzeugen können. In der Fig. 14 sieht man, wie sie nach der Nucleasewirkung, welche die basophilen Körner verschwinden läßt, unverändert fortbestehen.

Textfig. 12.



Junger Oocyt von *Holothuria tubulosa*. Fixation in FLEMMINGS Gemisch, Färbung mit Safranin. Basophile Körner den Wabenwänden des Zellplasmas eingelagert. Ebenfalls mit Safranin gefärbte Kernanlagerungen. Vergr. 1000 ×.

Ob die mit *a* in der Fig. 9 angedeuteten, von LOYEZ und SCHAXEL als Mitochondrien betrachteten feinen Körner, welche ich ebenfalls in

Textfig. 13



Textfig. 14.

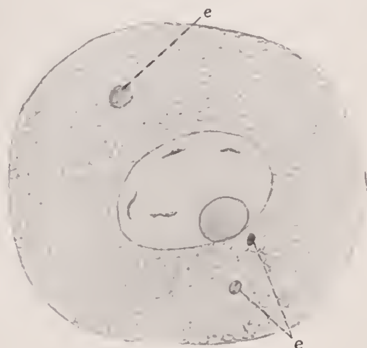


Fig. 13. Großer Oocyt von *Holothuria tubulosa*. Fixation in 70%igen Alkohol, Hämalaunfärbung während 15 Minuten. Basophile Körner den Wabenwänden des Zellplasmas eingelagert. *e* = extranucleäre Körper. Vergr. 1000 ×. — Fig. 14. Idem nach 24stündiger Nucleasewirkung. Die basophilen Körner sind verschwunden, das Chromatin im Kern ist blasser gefärbt. Die extranucleären Körper sind nicht von der Nuclease angegriffen. Vergr. 1000 ×.

der lebenden Eizelle von *Ciona* beobachtet habe, und welche in meinen nach Benda behandelten Präparaten sich mit Kristallviolett färben, der Nucleasewirkung zugänglich sind, vermag ich nicht zu sagen, weil sie im Alkoholpräparat nicht zutage treten, und der Verdauungsversuch deshalb nicht angestellt werden konnte.

Untersucht man das reife Ei von *Strongylocentrotus lividus* und *Holothuria tubulosa* nach der Bendaschen Methode, so trifft man violette Körner auf den Wabenwänden des Zellplasmas zwischen den blassen Dotterkörnern gelagert an, welche höchst wahrscheinlich dieselben Elemente sind, die wir im Alkoholpräparat als nucleinsäurehaltende Körner kennen lernten, welche nach der Nucleasewirkung verschwanden. Ich meine also in Gegensatz zu Schaxel, daß in diesem Fall die als Mitochondrien im reifen Ei dieser Tiere beschriebenen Elemente mit den nucleinsäurehaltenden Bausteinen der sogenannten Chromidien identisch sind.

Während die Konservierung der reifen Eizellen und der großen Oocyten der Echinodermen im Alkoholmaterial eine für unsre Verdauungsversuche sehr genügende war, gilt dies in geringerem Grade für die jüngsten Oocyten, wo die während des Lebens beobachteten feinen Körner in der Umgebung des Kernes (Fig. 7) bei der Fixation öfters zusammengeflossen waren und im Zellplasma eine diffuse Blaufärbung mit Hämalaun hervorriefen. Über das Verhalten dieser letzteren Zellen der Nuclease gegenüber kann nur dieses gesagt werden, daß ohne Ausnahme durch Einwirkung des Enzyms das Zellplasma dieser jungen Oocyten ihre basophilen Eigenschaften vollkommen verlor. Nur unter den sehr kleinen Eizellen (mit einem Durchmesser von 4—5 μ) gab es solche, wo auch im unverdauten Präparat das Zellplasma jede Neigung, sich mit basischen Farbstoffen zu färben, vermißte. Sie entsprechen wohl den jüngsten, Seite 440 beschriebenen Oocyten, welche noch keine Körner im Zellplasma während des Lebens erkennen ließen.

Es gibt noch eine andre Methode, die sogenannten Chromidien der Eizelle zu entfernen: Unterwirft man nämlich ein Ovarialfragment in Seewasser mit Toluolzusatz bei einer Temperatur von 38° der Selbstverdauung, und fixiert nach Verlauf von 24 Stunden in Alkohol, so bietet, wie aus einem Versuch bei *Sphaerechinus* hervorgeht, die Durchmusterung der Paraffindurchschnitte sehr schöne ältere und jüngere Oocyten dar, welche auch bei langdauernder Hämalaunfärbung im Cytoplasma weder eine diffuse Blaufärbung noch basophile Körner (also auch keine Chromidien) erkennen lassen, während das Chromatin der Kerne noch in geringem Grade die basischen Farbstoffe aufnimmt. Es ist wohl als

sehr wahrscheinlich zu betrachten, daß bei dieser Autodigestion eine Nucleasewirkung stattgefunden hat.

Auch das Trypsin in neutraler Lösung ruft bei einer 24stündigen Verdauung eine Lösung der Chromidien hervor. Es stellte sich heraus, daß das von mir benutzte Trypsin eine spaltende Wirkung auf Nucleinsaures Natrium auszuüben vermag. Aus dem Pankreas mit Zusatz von Darmschleimhaut bereitet, enthält es vermutlich Nuclease oder das ebenfalls nucleinsäurespaltende Erepsin, eine Tatsache, welche schon den Schwund der Chromidien zu erklären vermag. In alkalischer Lösung ist das Trypsin für diese Versuche ungeeignet, weil schon das Alkali an sich die basophilen Körner zu lösen vermag.

Mit dem Ziele nachzuforschen, ob das Ovarium der Echinodermen selbst nucleinsäurespaltende Enzyme enthält, habe ich frische weibliche Geschlechtsorgane von *Arbacia pustulosa* nach vorheriger Alkoholfixation getrocknet und das zu Pulver zerriebene Organ in 1%igem Natriumchlorid suspendiert. In Alkohol fixierte Durchschnitte von *Strongylocentrotus* und *Sphaerechinus* zeigen nach 24stündigem Verweilen in dieser Flüssigkeit bei einer Temperatur von 38° mit Toluolzusatz auch nach einer langdauernden Hämalaunfärbung oder Safraninfärbung denselben Aspekt wie die der Nucleasewirkung unterworfenen Schnitte: die basophilen Körner sind verschwunden, während das Chromatin blau, bzw. rot gefärbt wird. Dasselbe gilt für die Nisslschollen im Ganglion intervertebrale der Katze. Besonders das Filtrat des Dialysatorinhalts des während 24 Stunden gegen Wasser dialysierten Ovarialpulvers ist sehr wirksam.

Die ursprüngliche Vermutung, daß der Ovarialextrakt ein nucleinsäurespaltendes Enzym enthält, erfuhr schon eine Widerlegung durch die Wirksamkeit des sorgfältig gekochten Dialysatorinhalts. Wir wissen ja, daß die Nuclease dem Kochen keinen Widerstand leistet. Eine Enzymwirkung ist also jedenfalls ausgeschlossen.

Von welcher Natur diese mit Alkohol gefällte, in Wasser lösliche Substanz des Echinidenovariums ist, welche die nucleinsäurehaltenden basophilen Körner der Eizelle zum Verschwinden bringt, ist mir vollkommen unbekannt. Die neutrale Reaktion des benutzten Extraktes schließt jede Alkaliwirkung aus, und ein dieselbe Zeit dauernder Kontakt der Durchschnitte mit Seewasser oder mit 1%igem Natriumchlorid ist ohne irgendwelchen Einfluß.

Die Hauptquelle der von Masing[1]) im reifen Echinodermenei gefundenen Nucleinsäure ist also sichergestellt. Es gelingt nämlich, die

[1]) l. c. S. 436.

in den Wabenwänden eingelagerten, über das ganze Zellplasma verbreiteten basophilen Körner durch die Nuclease anzugreifen. Diese Körner, welche sich ebenfalls in der lebenden Zelle beobachten lassen, stammen möglicherweise aus dem Kerne her, obwohl wir einen direkten Beweis für diese Auffassung noch keineswegs als geliefert betrachten.

Für die Annahme eines genetischen Verbandes zwischen diesen Körnern und den bei Safraninfärbung ebenfalls basophilen, andern Farbstoffen gegenüber aber öfters acidophilen Körperchen, welche besonders bei *Holothuria poli* und *tubolosa* im Zellplasma der reifenden Eizellen angetroffen werden (*e*, Fig. 13 und 14), in jüngeren Stadien der Kernmembran dicht angeschmiegt sind (Fig. 12), und der Nucleasewirkung nicht zugänglich sind, fehlt augenblicklich jeder Grund. Und dasselbe gilt für die bei *Ciona intestinalis* beschriebenen Kernanhänge, mit denen die letztgenannten Elemente, was ihre Resistenz der Nucleaseverdauung und der Einwirkung starker Säure gegenüber betrifft, übereinstimmen. Es wäre also verfehlt, diese verschiedenen Elemente, wie es Schaxel[1]) tut, unter dem gemeinschaftlichen Namen »extranucleäres Chromatin« zusammenzufassen.

Das charakteristische Bild der Chromidien, wie es zuerst Bouin[2]) bei *Asterias* als »Ergastoplasma« beschrieben hat, wird in der lebenden Eizelle der Echinodermen nicht angetroffen, sondern durch eine von osmotischen Einflüssen bedingte Zusammenströmung der basophilen Körner, mit Überlassung eines körnerfreien oder körnerarmen Randbezirkes, hervorgerufen. Dieser Chromidialkörper bildet also, was seine gesamte Gestalt betrifft, ein Kunstproduckt (Fig. 3 u. 4), ist jedoch aus feinen, den Wabenwänden des Zellplasmas eingelagerten Körnchen aufgebaut, die zu der lebenden Substanz der Zelle gehören, bei der enzymatischen Wirkung der Nuclease gelöst werden, und vermutlich dieselben Elemente sind, welche sich in Benda-Präparaten wie Mitochondrien färben.

Das Chromatin der Eizelle und der Nucleolus werden von der von mir benutzten Nuclease in viel geringerem Grade als die obengenannten Elemente angegriffen. Dasselbe gilt für die Kerne der Stützsubstanz in der Umgebung des Ovarialgewebes. Eine 48stündige Nucleasewirkung auf die in Alkohol fixierten Testes des Frosches ruft Vacuolenbildung in den Spermaköpfen hervor, wie sie ebenfalls an diesem Objekt bei 24-stündiger Selbstverdauung auftritt; die Verbindung der Nucleinsäure

---

[1]) l. c. S. 431.
[2]) l. c. S. 437.

mit Eiweißkörpern ist vermutlich an diesen Stellen eine weniger feste als in den nicht veränderten Teilen. Möglicherweise wird es mit einem kräftiger wirksamen Enzym als das von mir benutzte gelingen, auch die chromatische Substanz der Echinodermeneikerne weiter zu zerstören.

Auch die als Nucleinsäureverbindung betrachteten, nie aber, wie ich meine, tatsächlich als solche nachgewiesenen Nissl-Schollen der Ganglienzellen habe ich der Nucleasewirkung unterworfen. Zu diesem Zwecke wurden die Intervertebralganglien einer jungen Katze in 90%-igem Alkohol fixiert. Die sehr gut konservierten Ganglienzellen sind äußerst reich an basophilen Körnern, welche nach 24stündiger Einwirkung des Enzyms vollkommen verschwunden sind, was ihre Zusammensetzung aus Nucleinsäureverbindungen sofort beweist. Auch dem von mir benutzten Trypsin in neutraler Lösung sind diese Körner bei längerer Einwirkung (24 Stunden) zugänglich, was, wie oben gesagt, wahrscheinlich auf der Beimischung des aus dem Pankreas mit Zusatz von Darmschleimhaut bereiteten Enzyms mit Nuclease oder Erepsin beruht.

Studies on the Cytology of some Species of Taraxacum.

By

J. Osawa.

(College of Agriculture, Imperial University, Tokyo.)

With Plates XXXVII—XXXVIII.

The well known experiment of RAUNKIAER (1903) showed, that many *Taraxacum*-species may produce good seeds, even when flowers are castrated in early stage. MURBECK (1904) and JUEL (1905), who also studied them embryologically and cytologically, concluded that parthenogenesis may take place in all species of *Taraxacum*.

On the other hand, ROSENBERG (1909) stated, that the typical tetrad-division of the embryo-sac-mother-cell takes place in *T. confertum* and DAHLSTEDT (1907) has expressed the opinion, that the normal fertilization may perhaps be necessary for the seed-production in certain *Taraxacum*-species. IKENO (1910) has also made many experiments in *T. platycarpum* Dahlst. and *T. albidum* Dahlst. and in the former species he never obtained any seed, when he, by enclosing the flower-heads in the bag of parchment-paper, hindered the cross-pollination, while in the latter, by the same treatment, he gained many seeds as normally. Thus he concluded, that "die parthenogenetische Entwicklung der Früchte ist also hier (*T. albidum*) wahrscheinlich, wenn auch die Selbstbefruchtung oder die Befruchtung innerhalb des Köpfchens keineswegs ausgeschlossen wäre"; and he continued, "so kann man sicher den Schluß ziehen, daß bei *T. platycarpum* keine Parthenogenese vorliegt."

At the suggestion of Prof. S. IKENO I repeated the castration-experiment in the spring of 1912 and made some cytological studies to throw further light in this question. Materials were gathered in the Botanical Garden of the Agricultural College of Komaba through his kindness.

For fixation acetic alcohol, CARNOY's fluid and FLEMMING's solution are employed. and the sections are cut 5—15 μ in thickness.

I. Field-Experiment.

The castration was carried on from the middle of March to the end of April 1912, both in *T. albidum* and *T. platycarpum*. The former, which is less common near Komaba, has white flowers and is characterized by having much larger leaves, flowers, flower-stalks, fruits, etc. than the latter. *T. platycarpum* is very common in Komaba and has yellow flowers.

Several dozens of the flower-heads of *T. platycarpum* were enclosed in the bags of parchment-paper before the opening of the flower to hinder the cross-pollination as in IKENO's experiment and my results confirmed entirely his experiments, for no seeds were obtained by such treatment. The castration-experiment was also carried on in the same species, but the result was, of course, entirely negative.

Many flower-heads of *T. albidum* were treated very carefully in the same manner and I found that almost all flower-heads, enclosed in the bags of parchment-paper, have produced great many normal seeds; moreover it was found that several castrated flower-heads produced seeds as normally, though many of such heads have withered away and fallen to the ground. This early withering of the flower-heads is without doubt due to the severe injury caused by the razor during castration, though this was carried on with utmost possible precaution. We cannot be too careful about the period of castration, because the loculi of the anther easily split and allow pollen-grains to go out, even when flower-buds remain yet tightly closed. The castration at a too early stage, however, appears to be very injurious to the flowers and lead to their withering.

At any rate, my field-experiment leads me to the conclusion, that the normal fertilization is absolutely necessary for the production of seeds in *T. platycarpum*, while in *T. albidum* good seeds may be produced parthenogenetically, as IKENO has already thought probable on account of his experiment.

II. Cytological Studies.

The cytological studies upon these two species of *Taraxacum*, especially, *T. albidum* are yet somewhat incomplete, owing to lack of sufficient material. But I think that the results obtained are of sufficient interest to be published already now.

A. Taraxacum platycarpum Dahlst.

a) The development of the pollen-grain.

At an earlier stage the nucleus of the pollen-mother-cell of *T. platycarpum* has one very large nucleolus and fine linin-net-works, upon which many chromatin-granules are scattered. The latter gradually increase in size and number; they might be perhaps homologized to the prochromosomes observed by Overton (1905) and some others (Fig. 1).

When synapsis approaches the linin-thread and chromatin-granules gradually contract towards the nucleoli, away from the nuclear membrane as usual; this contraction proceeds more and more, until finally a dense ball of threads is produced, from which a few loops of very delicate strands sometimes extend into the nuclear cavity. During this process many chromatin-granules, which stain deeply, are yet observable, being distributed upon the delicate linin-fibres (Fig. 2). As synapsis progresses the thread becomes thicker and thicker and more prominent than before.

After a comparatively long duration of this stage, the ball loosens its structure and the threads begin to extend gradually within the nuclear cavity (Fig. 3). Then the spirem appears to be uniform throughout its whole length and has the double structure, which is however in many cases difficult to be distinctly recognized (Fig. 4). The double structure is especially very clear in the places, where the halves of the spirems diverge for a short distance (Fig. 5); then the minute chromatin-substances — chromomeres — are to be seen, imbedded in the linin-threads. These double threads then contract gradually and fuse each other to form a thick spirem, which now streches itself loosely throughout the entire nuclear cavity and forms a very beautiful thick homogeneous filament as in Fig. 6.

After a short time this filament again separates into the double threads (Fig. 7), and soon afterwards there appears the indication of the cross-segmentation. An early stage of this process is shown in Figs. 8—9, where the thicker portion of the spirem presents the appearance of long variously bent or looped rods. Each rod presents the paired appearance and between each rod we can observe the thin part, which seems to be the drawn out portion of the spirem. The spirem is now very angular or uneven in its outline, as shown in Fig. 9.

When the contraction of the spirem proceeds further, these thin portions of the spirem disappear, thus gradually producing a certain number of chromosomes. At first every double chromosome takes the

form of *X*, *Y*, *V*, or *O*, as in Figs. 10—11, which is characteristic of the heterotypic division with long chromosomes.

The contraction and condensation of the chromosomes, which occur in the spirem stage, continue till later stages, so each double chromosome thickens and shortens more and more (Fig. 12), and finally changes into dumb-bell- or hour-glass-shaped body (Figs. 13—14). These chromosomes are now distributed loosely near the periphery of the nuclear cavity.

The number of chromosomes is easily to be counted in the diakinesis stage, and many careful observations revealed it to be eight for the gametophyte. As Rosenberg (1909) states that the reduced number of chromosomes in *T. confertum* is eight, the latter agrees in the number of chromosomes with *T. platycarpum*, at least in their haploid number.

Up to this stage the large nucleolus is yet to be seen in the nucleus (Fig. 14), but shortly afterwards the nuclear membrane as well as the nucleolus disappear, and the multipolar spindle appears in cytoplasm (Fig. 15), which is soon followed by a normal bipolar spindle. The eight double chromosomes, which are distributed irregularly in the cytoplasm, now arrange themselves on the equatorial plate as in Fig. 16, and at this stage the number of chromosomes can be counted very easily in the polar view (Fig. 17).

Every bivalent chromosome then splits in two univalent ones, and the daughter-chromosome moves towards both ends of the spindle. Fig. 18 shows the anaphase of the heterotypic division, seen more or less obliquely, and we may easily convince ourselves that each group of chromosomes consist of eight of them.

The diploid number of chromosomes in this species has been observed in the wall-cell of young ovules, and it proved to be sixteen. So the first nuclear division of pollen-mother-cells must be a heterotypic and reducing one. In the telophase of the first division the longitudinal fission of the chromosomes, preparing for the next division, is often observable, when the chromosomes become angular or amoeboid and pass into the more or less anastomosing condition, being followed by the formation of the nuclear membrane and the nucleoli, as shown in Fig. 19. This condition, however, seems to continue rather for a short time and the spindles of the second mitosis appear quickly. Fig. 20 shows the prophase of this mitosis, in which the two spindles are placed perpendicularly to each other, and the split chromosomes arrange themselves very regularly on the equatorial plate. At this stage we may also easily calculate

eight chromosomes in the polar view. Then the chromosomes separate and the daughter-chromosomes move towards the poles of the spindle (Fig. 21).

In the telophase of the second mitosis each group of eight chromosomes enters into the anastomosing condition and finally the four daughter-nuclei are produced as usual (Fig. 22); thus the second division must be the equal and homotypic one.

Shortly afterwards the cell-walls are formed between these four nuclei, producing a normal tetrad, and each of cells thus produced develops finally into a pollen-grain.

b) The development of the embryo-sac.

The embryo-sac of *T. platicarpum* is originally derived from a hypodermal archesporial cell, situated at the apex of the nucellus. It is at first discernible as a large cell at the apex of the nucellus, directly underneath its epidermis, and it is easily distinguished from the adjacent cells by its larger size and its reactions towards stains. This cell becomes directly the embryo-sac-mother-cell without division and no parietal cell is ever found. The nucleus of the embryo-sac-mother-cell has the same structure as that of the pollen-mother-cell in presynaptic stage, as before mentioned.

In the synaptic stage the threads gradually contract at one place of the nucleus and even when the synaptic ball becomes very compact, the constituent threads are yet recognizable more or less distinctly, and upon these linin-threads many small chromatin-granules are observable (Fig. 23). After a somewhat long duration of this stage the threads again loosen their structure and begin to extend in the nuclear cavity; the threads are then thicker and more distinct than in the presynaptic stage. As in the pollen-mother-cells, the double nature of the threads can be often detected distinctly under the favorable condition, e. g., in a looser portion of the spirem or in a thin tangential section of the nucleus (Figs. 24, 25). These paired threads then again conjugate to each other, forming a single homogeneous thick spirem as in the pollen-mother-cell (Fig. 26). The thread thickens, shortens and reaches the so-called "dolichonema" stage, which seems to last only for a little while and then the spirem reappears as double threads (Fig. 27). During the growth of the spirem the cross-segmentation of the paired threads into the definite number of chromosomes takes place as in the pollen-mother-cell.

Fig. 23 shows the paired chromosomes in the early stage of segmentation; here the chromosomes take the appearance of long bent rod-

like bodies, very angular or uneven in their outline; and they are very irregular in shape, being variously twisted. Fig. 29 shows a nucleus at a little later stage, when the chromosomes appear shorter and thicker. The condensation and contraction proceed further, until finally the spherical or granular chromosomes are produced (Figs. 30—32).

The number of chromosomes were counted in this diakinesis stage and it proved to be eight for the gametophyte.

Figs. 33—34 show the first division of the embryo-sac-mother-cell, where eight paired chromosomes are arranged at the equatorial plate of the bipolar spindle. When the contraction of the spindle fibres takes place the paired chromosomes separate from each other and pass to the respective poles of the spindle, and then we find that each group of chromosomes shows distinctly eight of them (Fig. 35). So the first nuclear division of the embryo-sac-mother-cell must be a heterotypic and reducing one, as in the pollen-mother-cell. At the anaphase of the first division the chromosomes become amoeboid in shape, and enter into the more or less anastomosing condition and it is followed by the formation of a cell-wall between these two daughter-nuclei, separating the original cell into nearly two equal ones (Fig. 36).

Shortly afterwards the two spindles appear simultaneously in both daughter-cells derived by the heterotypic mitosis and each chromosome arranges regularly in pair on the equatorial plate (Fig. 37). This mitosis is the homotypic division. In the telophase of the second division each chromosome yet maintains its respective identity. Then the cell-walls are produced between these four nuclei, forming a row of four megaspores (Fig. 38). At first they are nearly equal in size, but soon afterwards the lowermost one enlarges rapidly, consuming the upper three cells, which go gradually to degeneration. In more advanced stage these micropylar three cells are often observable as cap-shaped bodies upon the functional large megaspore and stain deeply with haematoxylin.

The further development of the functional megaspore takes place in the usual manner and we see scarcely any deviation. The cell enlarges gradually and many vacuoles appear in the cytoplasm. Then the nucleus divides once more by mitosis and these two daughter-nuclei move towards the opposite poles of the sac, which have a large central vacuole (Fig. 39). The two daughter-nuclei then divide simultaneously by mitosis and give rise to four nuclei, each of which undergoes once more the nuclear division, thus producing a typical eight-nucleated embryo-sac. At this stage the cytoplasm is visible as a thin layer in the periphery of the

embryo-sac, except around the nuclei. The four nuclei in the upper portion of the sac arrange themselves in the usual manner and form the egg-apparatus as well as the upper polar nucleus, while the four nuclei situated at the lower part of the sac form the three antipodal cells and the lower polar nucleus.

The mature embryo-sac is typical in every respect. The synergids lie side by side and the ovum is very large, protruding a little below them. The cytoplasm of the synergids is very dense and stains deeply with haematoxylin and has usually a large vacuole at its lower end (Fig. 41). That of the ovum is also greatly vacuolated. The antipodal cells appear to be degenerated in an earlier stage, and they remain as deeply staining irregular mass at the lower end of the sac. The two polar nuclei, situated in the central part of the sac, fuse to each other before fertilization. The primary endosperm-nucleus thus produced approaches very near the egg-apparatus and remains there, until fertilization takes place. The further development of the embryo-sac after fertilization was studied by Schwere (1896).

B. Taraxacum albidum Dahlst.

a) The development of the pollen-grain.

In the presynaptic stage the nucleus of the pollen-mother-cell of *T. albidum* has, as usual, a large nucleolus and many delicate linin-fibres, on which many chromatin-granules, variable in size and in shape, are scattered irregularly (Fig. 42). With the growth of the nucleus they increase in size and in number, and the linin-fibres become more distinct (Fig. 43). The approach of synapsis is indicated by the gradual contraction of the reticulum towards the nucleolus (Fig. 44), until finally linin and chromatin-granules are fused into a single dense mass, as in *T. platycarpum* (Fig. 45). After a comparatively long duration of synaptic stage there occurs again the gradual loosening of this mass (Fig. 46), and the spirem becomes thicker and shorter than before. It gradually increases in thickness and at the same time decreases in length, thus producing a dense homogeneous spirem, but I could never observe the spirem which has the double structure, as it was the case with *T. platycarpum*, though many sections of spirem at this stage were carefully studied.

When the spirem has shortened and thickened there appears the indication of the cross-segmentation, thus transforming the spirem into a chain of definite number of chromosomes (Fig. 47). At an early stage of this process each chromosome appears to be a more or less bent rod-

like or spindle-shaped body, which is connected with the thin portions of the thread, thus presenting more or less an appearance of pearl-string. Here the chromatic thread is without doubt single, and this fact is in sharp contrast to that seen in *T. platycarpum*, where the double nature of the thread is very clear. (Compare Figs. 47—48 with Figs. 7—8.)

The condensation and contraction, which has been going on in the spirem, continues till now, and the delicate fibres which connect the segments are gradually drawn apart and finally disappear. This latter action does not take place simultaneously throughout the whole length of the thread, but here and there in various times, thus forming groups of the chromosomes (Fig. 48). Each group is composed of a few segments arranged end to end. Finally the thread splits into a definite number of chromosomes, which are short rod-like or spindle-shaped bodies (Fig. 49). The condensation and contraction proceed in these chromosomes, until they become more compact, granular or spherical bodies. Fig. 50 shows a pollen-mother-cell cut in two serial sections and here one chromosome and one nucleolus were brought a little way out of the nucleus by the knife edge. The nucleus is now in diakinesis stage, each chromosome being scattered at the periphery of the nucleus. In many cases the pairing of chromosomes is very obscure and they are distributed nearly at equal distances from one another, but in other cases the double structure of the chromosome is somewhat recognizable, though it is not so distinct as in the case of *T. platycarpum*. After a short time there appear the fibrillae in cytoplasm around the nucleus and they enter into the nuclear cavity with the breaking down of the nuclear membrane, thus producing a multipolar spindle (Fig. 51); the large nucleolus also disappears during this process. The multipolar condition does not dure for a long time, but soon the spindle becomes changed into a typical bipolar one, as in Fig. 53.

In the first mitosis just mentioned, there are two cases. In the first case, the chromosomes arrange themselves very regularly on the equatorial plate of the spindle, which appears very wide (Figs. 52, 53). At this stage or earlier I made attempts to count the number of chromosomes in few sections, but the exact determination was very difficult on account of their great number and close aggregation (Fig. 52). The number of chromosomes, which was counted in the polar view of the equatorial plate or in diakinesis stage, appears, however, to lie between 36—40. At the anaphase of the first mitosis the daughter-chromosome at both poles of the spindle was counted and it proved that there exists also nearly the same number of them, and moreover this number coin-

cides nearly with the somatic number, which was found in the wall-cells of the young ovule. So the first nuclear division of the pollen-mother-cell may be the homotypic division and not the reducing one, at least in certain cases. In this case, it seems that the first mitosis is not sometimes followed by the formation of the second spindle, but the cell-wall is formed between these two daughter-nuclei, thus producing only two pollen-grains instead of the tetrad (Fig. 55), though exceptionally, each of them may divide mitotically.

In the second case, the spindle is narrower and the chromosomes are much larger, but less numerous than in the previous case just described (Fig. 56). Here the movement of the chromosomes towards the poles of the spindle goes sometimes very unevenly, because some of the chromosomes seem to move much more slowly than others, so that the chromosomes are scattered pretty irregularly on the spindle fibres (Fig. 57). In the anaphase of the first division we may count nearly twenty chromosomes in each pole of the spindle. Thus we may conclude that the first division may sometimes be the heterotypic and reducing one, as in the case of *T. officinale* (Juel, 1905). In this case the second division of the pollen-mother-cell is the homotypic division (Figs. 59, 60), though many irregularities may take place at this stage and different number of chromosomes may often be found in different daughter-nuclei.

In the telophase of the second division the nuclear membranes and nucleoli are produced in each daughter-nucleus and then the chromosomes enter into the anastomosing condition, thus forming a tetrad as usual.

In the pollen-development of *T. albidum*, there occur many irregularities and abnormalities besides those mentioned above. In many cases, the so-called extra-nuclear nucleoli were found very commonly during the heterotypic mitosis or during the amitotic division of pollen-mother-cell (Figs. 61—63).

The amitotic division of the pollen-mother-cell was observed very often. In the diakinesis or earlier, the nuclei of mother-cells show various irregular forms, some being dumb-bell- or hour-glass-shaped, others being irregularly branched, and others being drawn apart into two or more nuclei, variable in size (Figs. 61—63). Both mitotic and amitotic divisions are found in the same flower in different loculi of the anther.

More than four nuclei are often found in a single tetrad, and these supernumerous nuclei may be produced in various ways. The comparative slowness of the movement of some daughter-chromosomes towards the poles in the first division is sometimes the cause of these extra-nuclei,

because the special membrane-formation sometimes occurs arround these missed chromosomes; but generally they seem to be produced by the amitotic division of some of the daughter nuclei, already mentioned.

In the loculus of the anther, just before the flower opens, we find many irregular pollen-grains. They are, firstly, very variable in size, and secondly, their contents are also various; some having only vacuoles, others plenty of contents, which stain deeply with haematoxylin, indicating that their degeneration has already taken place.

b) The development of the embryo-sac.

The presynaptic stage of the nucleus of the embryo-sac-mother-cell is similar to that of the pollen-mother-cell, as mentioned before. In the synaptic stage the linin-net-works and chromatin-granules contract gradually, separating away from the nuclear wall, until a dense ball is produced (Fig. 64). During this stage linin-threads become more distinct and even in denser portion their structure may be discernible as a delicate spirem. After a comparatively long duration, there occurs the gradual loosening of these threads as usual, which is easily recognized, because then the threads become much thicker and shorter (Fig. 66). The spirem now extends loosely in the nuclear cavity and continues to thicken and shorten, thus attaining the so-called "dolichonema" stage. This thickening process, however, does not proceed equally throughout the whole length of the spirem, so that it now presents a more or less moniliform appearance, the thicker regions of the spirem being connected together by the thinner portions (Fig. 67). When the contraction proceeds further, the difference of thickness of the spirem becomes more evident and there appears the indication of the cross-segmentation of the spirem into a number of chromosomes (Fig. 68). At this stage or earlier, I have never observed the parallel arrangement of the spirem, though in both the pollen-mother-cell and the embryo-sac-mother-cell of *T. platycarpum* it was very clearly observed; on the contrary it appears always as a single one as in Figs. 67 and 68.

After a short time there occurs the gradual breaking up of delicate linin-fibres, which connect the chromosomes to each other, thus producing a few short chains of chromosomes and each of these chains finally divides transversally into the definite number of chromosomes (Fig. 68).

At an earlier stage of the segmentation each chromosome appears to be variously bent long bodies with uneven or angular outline. They are distributed irregularly in the nuclear cavity and there is no pairing

of chromosomes, being in sharp contrast to that observed in the embryo-sac-mother-cell of *T. platycarpum*. This accords well with that observed by Juel (1905) in *T. officinale*. He says, »Die Chromosomen liegen in gleichmäßigen Abständen voneinander und sind oft ein bißchen gekrümmt. Sie erinnern dadurch einigermaßen an die Spireme der vegetativen Kerne (vgl. Fig. 35). Ich möchte auch in der Tat dieses Stadium als ein solches Spirem auffassen.«

These chromosomes contract gradually and in the diakinesis stage appear as isodiametric or granular bodies, which are distributed irregularly in the nuclear cavity as in Fig. 69. The number of chromosomes was counted in many sections, and it appears in most cases to be 36—40, as in the case of the pollen-mother-cell. The exact determination of their number, however, is very difficult, owing to their great number and close aggregation. Before entering into the spindle-formation of the first mitosis the nucleus elongates greatly and each chromosome splits into two long pieces, which take the shape of *X*, *Y*, or *V*. Fig. 70 shows one of such stages, in which I could count nearly 40 paired chromosomes, and 3 nucleoli differing in their size. Juel (l. c.), who has observed the same fact in *T. officinale* says, »Die während der Diakinese kurzen, klumpenförmigen Chromosomen haben sich also gespalten, und die Spalthälften haben sich zu Fäden ausgestreckt. Daß eine solche Veränderung der Chromosomen auch sonst auftreten kann, geht z. B. aus einem Vergleich der Fig. 58 und 59 (Taf. XXXIX) hervor. Wir sehen in Fig. 58 die Diasterphase der ersten Kernteilung in der E. M.-Zelle von *Hieracium umbellatum*. Die Chromosomen sind hier fast eben so stark zusammengezogen als in der Diakinese von *Taraxacum*, aber in der Prophase der zweiten, homöotypischen Teilung (Fig. 59) erscheinen sie in der Gestalt von ziemlich langen Doppelfäden.« Further, »Die Ähnlichkeit der in Fig. 13—15 abgebildeten Kerne mit einer homöotypischen Prophase ist nicht schlagend, aber sie kann jedoch nicht ganz in Abrede gestellt werden. Ich möchte annehmen, daß in den Prophasen in der E. M.-Zelle von *Taraxacum* nach der Diakinese ein Umschlag eintritt, indem der Kern sich von nun an nach den Regeln der homöotypischen Teilungsart richtet.«

Only in few sections I met with the stage of the spindle-formation in the first mitosis. Fig. 71 shows the metaphase of the first division, in which the chromosomes arrange themselves into a very wide nuclear plate and it is very difficult to calculate the number of chromosomes from such figures, but the spindle resembles very much that in the equal division in the first mitosis of the pollen-mother-cell. Fig. 72 shows

the anaphase of the first mitosis, in which one embryo-sac-mother-cell was cut in three serial sections more or less obliquely; in the upper group of chromosomes we may easily count at least 38 chromosomes. So the first nuclear division of the embryo-sac-mother-cell appears to be the homotypic division, but not the reducing one.

Soon afterwards a nuclear membrane and nucleoli appear in both daughter-nuclei, being followed by the formation of a cell-wall between them. Thus two megaspores are produced (Fig. 73). The second nuclear division, which gives rise to a row of four megaspores in the case of *T. platycarpum*, does not take place here at all. The lower or chalazal megaspore, on the contrary, begins to enlarge at once, compressing the upper or micropylar one, which now shows signs of disintegration (Fig. 74). The cytoplasm becomes denser and stains deeply and the nuclei also lose their definite outline, being followed by the complete degeneration of the upper cell, which remains for a time as a dark cap at the summit of the embryo-sac (Fig. 75). The lower cell enlarges gradually and develops directly into the embryo-sac.

The further development of the latter is similar to that of *T. platycarpum* and we may scarcely find any deviation. At a certain time the nucleus of the lower functional megaspore divides by mitosis and the two daughter-nuclei thus formed undergo two successive divisions, thus producing a normal eight-nucleated embryo-sac. The mature embryo-sac has the same construction as that of *T. platycarpum*, but is exceedingly larger than that of the latter. Fig. 76 shows an embryo-sac, in which the primary endosperm-nucleus has already undergone few mitoses, while the egg nucleus yet remains undivided; three antipodal cells and two synergids (one of which is shown in the figure) are recognizable, but the former shows the indication of disintegration. In these or earlier stages of the embryo-sac I could never found any pollen-tube in the micropylar portion; moreover the synergids were found intact in many cases, even when the embryo has reached the eight-or more-celled stage.

When the ovum-cell undergoes its first division, we may count already several dozen endosperm-nuclei.

III. Discussion.

a) Irregularities in the pollen-development.

In the pollen-development of *T. albidum* there occur many irregularities and abnormalities, which lead to the production of irregular pollen-grains, while in *T. platycarpum* it goes quite normally, as already mentioned.

These irregularities in the pollen-development are not rarely met with in the parthenogenetic plants, as we know from the studies of many authors. Juel (1900) found in *Antennaria alpina* that there exists scarcely any good pollen-grain at all in the loculus of the anther. Murbeck (1901), who has studied *Alchemilla* stated, that in *A. alpina* and *A. sericata* the disintegration occurs in pollen-mother-cells, even before the tetrad-division, while in *A. speciosa* and *A. alpestris*, though pollen-grains are produced by the normal tetrad-division, their great part undergoes the degeneration, and that others, which look normally, have no germinating power at all. Rosenberg (1907) mentioned about *Hieracium excellens*, that several irregularities take place in the tetrad-division, though the heterotypic spindle is formed. Winkler (1906) showed in *Wickstroemia indica*, that though the pollen-mother-cell generally undergoes the normal tetrad-division, the daughter-cells degenerate without reaching the maturity, that many nuclei may be sometimes found in one tetrad as in *T. albidum* and also that the pollen-mother-cell often becomes directly a pollen-like body without any preliminary division. In *Houttuynia cordata*, studied by Shibata and Miyake (1908), there occurs no reducing division, but one homotypic mitosis, thus producing only two cells, as often seen in *T. albidum*; several irregularities, e. g., amitotic division of the daughter-nuclei of the pollen-mother-cell, the scattering out of chromosomes in cytoplasm. etc. were also observed.

Similar irregularities of pollen-development and the sterility of pollen-grains also occur very commonly in hybrid plants. For example, in the hybrids of *Syringa* (Juel, 1900). *Cotton* (Cannon, 1903), *Drosera* (Rosenberg, 1904, 1909), *Sweet peas* (Gregory, 1905), *Ribes*, *Bryonia*, *Syringa* and *Banana* (Tischler, 1906, 1908. 1910), *Oenothera* (Gates, 1907). irregularities and abnormalities were found, such as the early disintegration of the pollen-mother-cell, the scattering of chromosomes out of the spindle into cytoplasm in the heterotypic division, amitotic division of daughter-nuclei, the formation of many nuclei in one tetrad, etc.

In my present investigation it appears to be probable that those races, which contain the larger number of chromosomes, were phylogenetically derived from those others, which contain less numerous chromosomes. In *T. platycarpum* the tetrad division takes place quite normally in every respect; in *T. officinale*, according to Juel, there occur some irregularities, though the heterotypic spindle is normally formed, while in *T. albidum* many irregularities take place in the pollen-development, as mentioned before, and it is hardly possible to take such form as *T.*

albidum, showing considerable irregularities in their development, for the original form, from which such a regular member as *T. platycarpum* was derived. The similar relation we can see in *Banana*, studied by TISCHLER (1910). He found that three races of *Banana*, called "*Dole*", "*Radjah Siam*", "*Kladi*" appear to have 8, 16 and 24 chromosomes as their respective haploid number. In "*Dole*" (8) the nuclear division of the pollen-mother-cell is quite normal, while "*Kladi*" (24) is very abnormal in this respect and produces only sterile pollen-grains. MARCHAL's (1909) bivalent varieties of the mosses appear to show a similar relation.

b) Cell-size and Chromosome-Number.

The very first examination of *T. albidum* revealed me the fact that the pollen-mother-cell as well as its nucleus are considerably larger than those of *T. platycarpum*. I tried to ascertain whether this difference is constant or not and whether here also the BOVERI's (1905) law, concerning the relation between the number of chromosomes and the size of nucleus may hold or not. Similar studies were already made in *Oenothera* by GATES (1909); in mosses by EL. and EM. MARCHAL (1909) and in *Banana* by TISCHLER (1910). In *Oenothera Lamarckiana*, the number of chromosomes is 7 for the gametophyte, while in *O. gigas* there are 14 of them, and the ratio of the volumes of the nuclei of pollen-mother-cell in synapsis stage was nearly 1 : 2. In the bi- and tetravalent races of mosses, produced artificially, EL. and EM. MARCHAL found also the similar relation. For example, in *Amblystegium serpens* $2n$ and $4n$[1]), the ratio of the volumes of the nuclei of the mother-cells is 1 : 2.1 before synapsis, 1 : 17 in synapsis. In *Mnium hornum* $1n$ and $2n$[2]), the volumes of nuclei of the antheridium in various stages have the ratio of 1 : 1.7; 1 : 2.1; 1 : 2.

In three races of *Banana*, "*Dole*", "*Radjah Siam*", "*Kladi*", TISCHLER found that they have respectively 8, 16, and 24 chromosomes and that the volumes of their respective nuclei stand to each other in the ratio of 1 : 2 : 3.

In my present investigation I have measured 25 nuclei of the pollen-mother-cell in spirem stage in both species, for then the nucleus reaches its greatest size. The number in the following table shows that of the parts of an ocular micrometer, each part measuring 0.00167 mm.

---

1) $2n$ and $4n$ mean bivalent and tetravalent respectively.

2) $1n$ and $2n$ mean univalent and bivalent respectively.

T. platycarpum. longer axis.	shorter axis.	aver. length.	*T. albidum.* longer axis.	shorter axis.	aver. length.
7.5 :	5.5 =	6.50	10.0 :	6.0 =	8.00
7.5 :	5.0 =	6.25	10.5 :	6.0 =	8.25
7.0 :	5.5 =	6.25	9.5 :	7.0 =	8.25
7.0 :	6.0 =	6.50	9.0 :	7.5 =	8.25
6.5 :	5.5 =	6.00	11.0 :	6.5 =	8.75
6.5 :	6.0 =	6.25	8.5 :	7.0 =	7.75
8.0 :	4.5 =	6.25	9.0 :	6.5 =	7.75
7.0 :	6.0 =	6.50	10.0 :	6.5 =	8.25
6.5 :	6.5 =	6.25	9.0 :	6.5 =	7.75
6.0 :	6.0 =	6.00	9.0 :	7.0 =	8.00
6.0 :	5.5 =	5.75	8.0 :	7.0 =	7.50
6.5 :	5.5 =	6.00	9.0 :	7.0 =	8.00
8.0 :	5.0 =	6.50	9.0 :	8.0 =	8.50
7.0 :	5.5 =	6.25	9.0 :	6.5 =	7.75
6.5 :	5.0 =	5.75	8.5 :	7.0 =	7.75
7.0 :	5.0 =	6.00	9.5 :	7.5 =	8.50
6.5 :	6.0 =	6.25	10.5 :	5.5 =	8.00
8.0 :	5.0 =	6.50	9.5 :	6.0 =	7.75
7.0 :	4.5 =	5.75	8.5 :	7.5 =	8.00
6.0 :	4.0 =	5.00	8.5 :	7.0 =	7.75
7.0 :	5.0 =	6.00	9.0 :	7.5 =	8.25
7.5 :	5.5 =	6.50	9.0 :	7.0 =	8.00
8.0 :	5.0 =	6.50	9.5 :	6.5 =	8.00
7.0 :	5.5 =	6.25	9.0 :	6.5 =	7.75
6.5 :	5.5 =	6.00	9.0 :	7.0 =	8.00
		154.00			200.50

From the above table we see that the ratio of the average lengths of the two axes of nuclei in *T. albidum* and *T. platycarpum* is 200.5 : 154 or 4.01 : 3.1. The ratio of their volumes is therefore $\frac{3}{4}\pi\,(4.01)^3 : \frac{3}{4}\pi\,(3.1)^3$ or 64 : 29.79 or 2.18 : 1. From this we see that the ratio of the volumes of the nuclei nearly corresponds to that of the number of chromosomes; moreover in *T. officinale*, which contains in their nuclei 26 chromosomes as haploid number, the nucleus appears to lie in its size between these two species, so far as I can judge from JUEL's illustrations[1]).

[1]) For example, l. c. Taf. II, Figs. 26, 27.

IV. Summary.

1. By castrating flowers or by enclosing flower-heads in bags, *T. platycarpum* can produce no seeds, whereas *T. albidum* can produce many of them.

2. In *T. platycarpum*, the number of chromosomes is eight for the gametophyte and sixteen for the sporophyte.

3. In *T. platycarpum*, the first nuclear division of the pollen-mother-cell is the heterotypic and reducing one, while the second mitosis is the homotypic and equal one. Moreover there occur no irregularities in their tetrad-division, producing normal pollen-grains.

4. In *T. platycarpum*, the embryo-sac-mother-cell undergoes two successive divisions, one heterotypic and one homotypic, producing a row of four megaspores; the chalazal megaspore enlarges gradually and becomes the embryo-sac.

5. In *T. albidum*, the first nuclear division of the pollen-mother-cell may perhaps be either heterotypic or homotypic. In the latter case, the second division often fails and produces then only two spores; in the former case, the second division is the homotypic one and several irregularities are often observable.

6. In *T. albidum*, some of the pollen-grains disintegrate during their development, while others are very irregular in their size and shape and appear to have no germinating power.

7. In *T. albidum* the embryo-sac-mother-cell undergoes no reducing division at all, but only one homotypic division, thus producing only two megaspores; of which one placed towards the chalaza becomes the embryo-sac.

8. The number of chromosomes of *T. albidum* seems to lie between 36—40.

9. In *T. albidum* the oosphere can develop parthenogenetically.

10. The volume of nuclei of the pollen-mother- cell in several species of *Taraxacum* seems nearly to be directly proportional to the number of their chromosomes.

Tokyo, November 4, 1912.

Literature Cited.

Boveri, Th., Zellenstudien V. Über die Abhängigkeit der Kerngröße und Zellenzahl der Seeigellarven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Jena 1905.

Cannon, W. A. Studies in plant hybrids. The spermatogenesis of hybrid cotton. Bull. Torrey bot. Club. Vol. XXX. 1903.

Dahlstedt, H. Über einige im Bergianischen botanischen Garten in Stockholm kultivierte Taraxaca. Acta horti Bergiani. Bd. IV. 1904.

Gates, R. R. Pollen-development in hybrids of Oenothera lata × O. Lamarckiana, and its relation to mutation. Bot. Gaz. Vol. XLIII. 1907.

—— The stature and chromosomes of Oenothera Gigas, De Vries. Archiv f. Zellforsch. Bd. III. 1909.

Gregory, R. P. The abortive development of the pollen in certain sweet peas. Proc. Cambridge Phil. Soc. Vol. XIII. 1905.

Ikeno, S. Sind alle Arten der Gattung Taraxacum parthenogenetisch? Ber. d. Deut. bot. Gesellsch. Bd. XXVIII. 1910.

Juel, H. O. Beiträge zur Kenntnis der Tetradenteilung. II. Die Tetradenteilung bei einer hybriden Pflanze. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXV. 1900.

—— Vergleichende Untersuchungen über typische und parthenogenetische Fortpflanzung bei der Gattung Antennaria. Kgl. sv. vet.-Akad. Handl. Bd. XXXIII. 1900.

—— Die Tetradenteilung in der Samenanlage von Taraxacum. Arkiv för Botanik. Bd. II. 1904.

—— Die Tetradenteilungen bei Taraxacum und andern Cichorieen. Kgl. Sv. Vet.-Akad. Handl. Bd. XXXIX. 1905.

Marchal, El. et Em. Aposporie et sexualité chez les Mousses. II. Bull. Acad. royale de Belgique, Cl. d. sc. Nr. 12. 1909.

Murbeck, Sv. Parthenogenetische Embryobildung in der Gattung Alchemilla. Bot. Ztg. Bd. LIX. 1901.

—— Parthenogenese bei den Gattungen Taraxacum und Hieracium. Bot. Notiser. 1904.

Overton, B. Über Reductionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII. 1905.

Raunkiaer, C. Kimdannelse uden Befrugtung hos Maelkebotte (Taraxacum). Bot. Tidskrift. Bd. XXV. 1903.

Rosenberg, O. Über die Tetradenteilung eines Drosera-Bastardes. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XXII. 1904.

—— Cytological studies on the apogamy in Hieracium. Botanisk Tidskrift. Bd. XXVII. 1907.

—— Cytologische und morphologische Studien an Drosera longifolia × rotundifolia. Kgl. Sv. Vet.-Akad. Handl. Bd. XLIII. 1909.

Rosenberg, O. Über die Chromosomenzahl bei Taraxacum und Rosa. Svensk. Bot. Tidskrift. III. 1909.

Schwere, S. Zur Entwicklungsgeschichte der Frucht von Taraxacum officinale Web. Flora. Bd. LXXXII. 1896.

Shibata, K. u. Miyake, K. Studien über Parthenogenesis bei Pflanzen. I. Houttuynia cordata. Bot. Mag. Tokio. Vol. XXII. 1908.

Tischler, G. Über die Entwicklung des Pollens und der Tapetenzellen bei Ribes-Hybriden. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII. 1906.

—— Über die Entwicklung der Sexualorgane bei einem sterilen Bryonia-Bastard. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XXIV. 1906.

—— Zellstudien an sterilen Bastardpflanzen. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.

—— Untersuchungen über die Entwicklung des Bananen-Pollens I. Archiv f. Zellforsch. Bd. V. 1910.

Winkler, H. Über Parthenogenesis bei Wickstroemia indica. Ann. du Jard. bot. de Buitenz. 2. Série. V. 1906.

Explanation of Figures.

All figures were drawn with the aid of the camera lucida, giving the magnification of nearly 1700 diameters, except Figs. 39—41, 55, and 73—77.

Pl. XXXVII, Fig. 1—41 relate teo *T. platycarpum*; Pl. XXXVII, Fig. 42—52, and Pl. XXXVIII, Fig. 53—77 relate to *T. albidum*.

Plate XXXVII.

Fig. 1. The nucleus of the pollen-mother-cell in presynaptic stage.

Fig. 2. The same in synapsis.

Fig. 3. The same in later stage.

Figs. 4, 5. The same in spirem stage, showing the pairing of spirems in a few places.

Fig. 6. The same, showing a single thick spirem in dolichonema stage.

Fig. 7. The same, showing longitudinal splitting of the spirem.

Fig. 8. The same, in more advanced stage.

Fig. 9. The same, showing more thickened spirem. Cross-segmentation already begun.

Fig. 10. The same, showing long bent chromosomes, which are twisted and form several irregular rods in shape of *X*, *Y*, *V*, and *O*.

Fig. 11. The same in more advanced stage, showing thicker and shorter paired chromosomes. Figs. 12, 13. The same in later stage; some of the paired chromosomes show hour-glass shape; eight chromosomes.

Fig. 14. Pollen-mother-cell. Its nucleus in diakinesis stage.

Fig. 15. The same in early prophase of the heterotypic mitosis, showing the multipolar spindle.

Fig. 16. The same, side-view of the heterotypic spindle in metaphase.

Fig. 17. The same; polar view of the heterotypic spindle, showing eight chromosomes.

Fig. 18. The same in the anaphase of the same division.

Fig. 19. The same, showing interkinesis stage between the first and second mitosis.

Fig. 20. The same, showing the metaphase of the second mitosis.

Fig. 21. The same, showing the anaphase of the same mitosis.

Fig. 22. The same, showing the later telophase of the same mitosis.

Fig. 23. Embryo-sac-mother-cell, showing the nucleus in synaptic stage.

Figs. 24, 25. The nucleus of the embryo-sac-mother-cell, showing paired threads.

Fig. 26. The same in dolichonema stage.

Fig. 27. Embryo-sac-mother-cell, containing the nucleus of more advanced stage.

Fig. 28 *a*, *b*. The nucleus of the embryo-sac-mother-cell, cut in two serial sections, showing longitudinal splitting and cross-segmentation of the spirem.

Fig. 29. The same, showing long bent rod-like chromosomes, which present several twisted forms.

Fig. 30 *a*, *b*. The same, cut in two serial sections in more advanced stage, showing eight double chromosomes.

Figs. 31 *a*, *b* and 32. The same in diakinesis stage; eight chromosomes are clearly observable.

Fig. 33 *a*, *b*. Side-view of the heterotypic spindle of the embryo-sac-mother-cell, showing eight double chromosomes, which arrange regularly in the equatorial plate.

Fig. 34. Embryo-sac-mother-cell in the anaphase of the first division.

Fig. 35. The same in the telophase of the heterotypic mitosis.

Fig. 36. The same in later stage.

Fig. 37. Metaphase of the second mitosis of the embryo-sac-mother-cell.

Fig. 38. A row of four megaspores.

Fig. 39. Two-nucleated embryo-sac with large vacuoles. × 1300.

Fig. 40. Four-nucleated embryo-sac. × 900.

Fig. 41. Mature embryo-sac, showing oosphere, one synergid, primary endosperm nucleus and partly degenerated antipodal cells. × 600.

Fig. 42. The nucleus of the pollen-mother-cell in resting condition.

Fig. 43. The same in later stage.

Fig. 44. The same in synapsis.

Fig. 45. The same in more advanced stage.

Fig. 46. The same, showing spirem-threads.

Fig. 47. The same, showing more thickened spirem, in which cross-segmentation into chromosomes has already begun.

Figs. 48, 49. The same in more advanced stage, showing long rod or spindle-shaped chromosomes, where their pairing is scarcely observable.

Fig. 50 *a*, *b*. A pollen-mother-cell, cut into two serial sections, showing diakinesis stage.

Fig. 51. The same in early prophase of the first division, showing multipolar spindle.

Fig. 52. The same, showing polar view of the equatorial plate in the metaphase of the first mitosis.

Plate XXXVIII.

Fig. 53. The samè, showing side-view of the same spindle.

Fig. 54. The same, showing anaphase of the first division.

Fig. 55. Pollen-mother-cell, containing two spores, resulting from the first mitosis. × 900.

Fig. 56. The same, showing side-view of the heterotypic spindle.

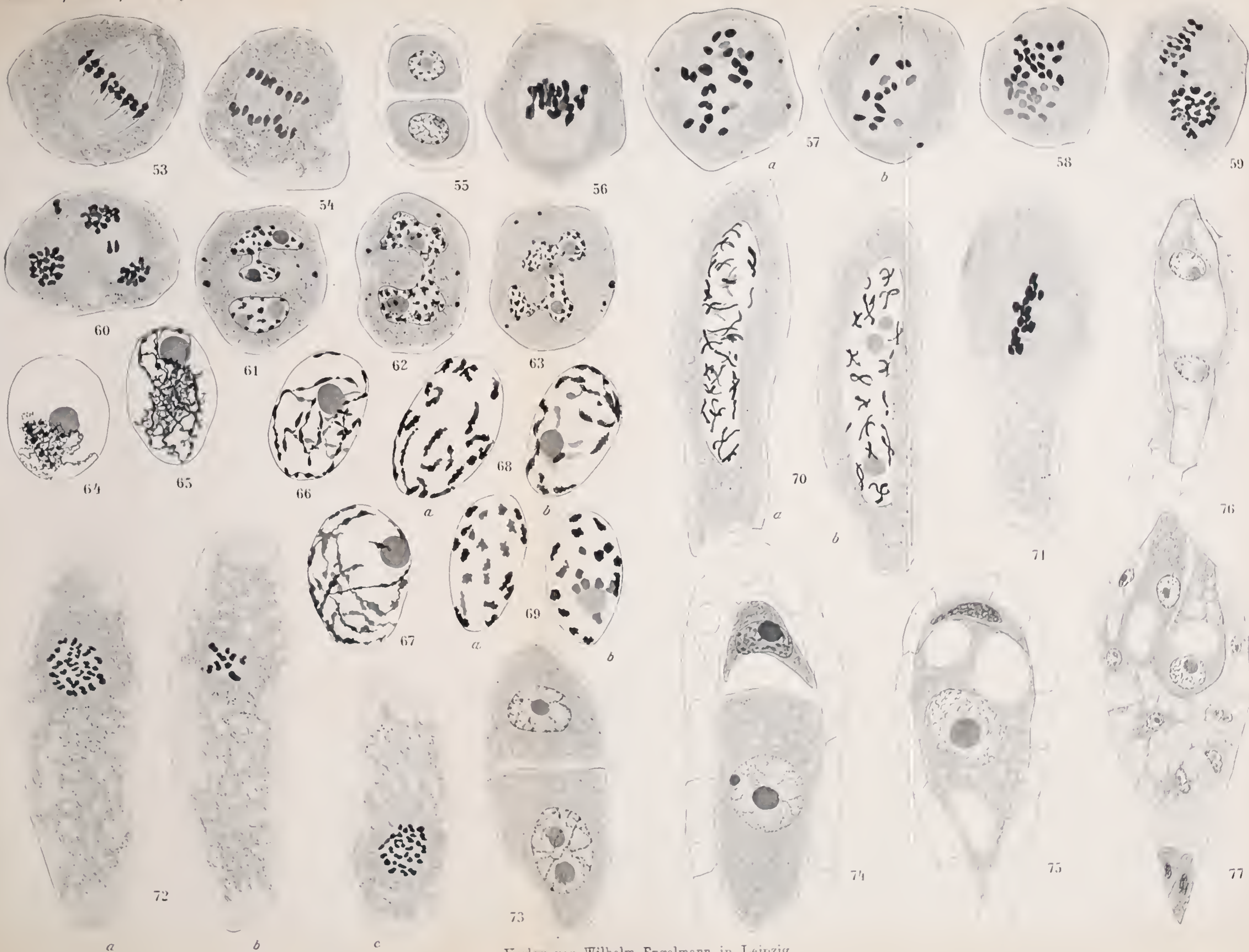
Fig. 57 *a*, *b*. The same, cut in two serial sections, showing the anaphase of the heterotypic spindle; the movement of the daughter-chromosomes towards the poles of the spindle is very irregular.

Fig. 58. The same in telophase.



Osawa

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.



Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.

Figs. 59, 60. The same in second division; few chromosomes scattered in cytoplasm.

Figs. 61—63. The same, showing amitotic division of the nucleus.

Fig. 64. The nucleus of the embryo-sac-mother-cell in synapsis.

Fig. 65. The same in later stage.

Fig. 66. The same, showing more thickened spirem, which shows more or less moniliform appearance.

Fig. 67. The same in later stage.

Fig. 68 *a*, *b*. The same, cut in two serial sections, showing long bent rod-like chromosomes.

Fig. 69 *a*, *b*. The same, cut into two serial sections, showing diakinesis stage.

Fig. 70. Embryo-sac-mother-cell, cut in two serial sections, containing long nucleus, which shows 40 double long chromosomes and 3 nucleoli.

Fig. 71. The same, showing side-view of the first nuclear division.

Fig. 72 *a*, *b*, *c*. The same, cut more or less obliquely into three serial sections, showing the anaphase of the first mitosis.

Fig. 73. Two megaspores produced by the first division. × 1300.

Figs. 74, 75. Functional megaspore and micropylar megaspore in degeneration. × 1300.

Fig. 76. Two-nucleated embryo-sac. × 600.

Fig. 77. Embryo-sac, showing a few endosperm-nuclei, oosphere, one synergid, and partly degenerated antipodal cells. × 410.

Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von Brachycoelium salamandrae (Brachycoelium crassicolle [Rud.]).

Von

Dr. Gustav A. von Kemnitz.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit Tafel XXXIX.

Inhalt.

I. Einleitung.

Durch die Untersuchung SCHELLENBERGS (11) an *Fasciola hepatica* ist die Frage nach den Reifungserscheinungen bei Trematoden wieder belebt worden, eine Frage, die bekanntlich deshalb ein besonderes Interesse darbietet, weil es nach den Untersuchungen GOLDSCHMIDTS (05, 09) an dem Trematoden *Zoogonus mirus* den Anschein hatte, als gelinge es, bei dieser Tiergruppe gewissermaßen die Phylogenie des Reduktionsprozesses dem Verständnis näher zu führen. GOLDSCHMIDT glaubte bekanntlich festgestellt zu haben, daß bei *Zoogonus* eine durch Chromosomenkonjugation bewirkte Pseudoreduktion während der synaptischen Stadien der Eibildung unterbliebe, daß dementsprechend in die Prophase der ersten Reifeteilung, die Normalzahl — 10 — der Chromosomen einrückt, die während der Metaphase I äquationell geteilt werden, während die zweite Reifeteilung ohne vorausgehende Syndese die eine Hälfte (also 5) Chromosomen, dem zweiten Richtungskörper zuführt, während die verbleibenden fünf Chromosomen in den weiblichen Vorkern eingehen. Also ein phylogenetisch betrachtet, relativ einfacher Reduktionsmodus, den GOLDSCHMIDT daher auch als »Primärtypus« bezeichnete. Es ist bekannt, daß diese Darstellung nicht ohne Widerspruch geblieben ist. Zunächst haben A. und K. E. SCHREINER (08) an GOLDSCHMIDTS eignen Präparaten eine wesentlich andre Darstellung der Verhältnisse gegeben: Die Chromosomennormalzahl betrage nicht 10 oder 12, sondern »wenigstens 22, wahrscheinlich aber etwas höher, etwa 24—26«. Es erfolge während der synaptischen Stadien eine regelrechte Pseudoreduktion durch parallele Konjugation der Chromosomen und die von GOLDSCHMIDT beobachteten Zahlen 10 oder 12 in der Prophase I stellten eben die reduzierte Zahl dar. Die erste Reifeteilung erfolge reduktionell, die zweite äquationell, also nach dem »heterohomeotypischen Schema«. GOLDSCHMIDT (09) hielt demgegenüber seine ursprüngliche Darstellung aufrecht, während der nächste *Zoogonus*-Untersucher GRÉGOIRE (09) an GOLDSCHMIDTS Präparaten abermals zu einer neuen Auffassung kam. GRÉGOIRE bestimmt in Übereinstimmung mit GOLDSCHMIDT die Chromosomennormalzahl auf 10 oder 12, wahrscheinlich 12. In den synaptischen Stadien erfolgt Pseudoreduktion durch parallele Konjugation und die Reifeteilungen verlaufen nach dem »heterohomeotypischen Schema«. Die jüngste *Zoogonus*-Untersuchung stammt von WASSERMANN (11, 12), der mit GOLDSCHMIDT und GRÉGOIRE die Normalzahl 12 findet, im Gegen-

satz zu letzterem aber eine endweise Verknüpfung (Metasyndese) der Chromosomen während der synaptischen Stadien angibt. Darüber aber, ob die Reifeteilungen nun nach dem Copepodenschema also prääquationell-postreduktionell verlaufen, oder etwa durch Umklappen der Chromosomen oder durch Trennung nach dem Querspalt in der Metaphase I auf das präreduktionell-postäquationelle Schema zurückgeführt werden, spricht sich WASSERMANN in seinen vorläufigen Mitteilungen noch nicht aus.

Inzwischen hatte GOLDSCHMIDT (08) die Eireifung eines andern Trematoden, des *Dicrocoelium lanceolatum*, untersucht und dabei festgestellt, daß nach Metasyndese während der synaptischen Stadien die reduzierte Zahl der Chromosomen in die Prophase I einrückt, die in der Metaphase I nach dem Querspalt also reduktionell getrennt werden, während die zweite Reifeteilung äquationell erfolgt. Dagegen gibt DINGLER (10) für dasselbe Objekt in der Spermatogenese Parasyndese und dementsprechend vollkommen heterohomeotypisches Schema an. — Eine durchaus neue Darstellung der Eireifung gibt SCHELLENBERG (11) für *Fasciola hepatica*: Während der synaptischen Stadien tritt Pseudoreduktion durch Metasyndese ein, die aber später wieder rückgängig gemacht wird, so daß auf ein Pachynema mit der reduzierten Zahl 6, ein solches mit der Normalzahl 12 folgt. In den Prophasen I trifft man — bei ein und demselben Tier — 6 und 12 sowie alle Übergänge zwischen 1 und 9 Chromatinballen. Diese merkwürdigen Zahlenverhältnisse erklären sich nach SCHELLENBERG in der Weise, daß die in den letzten synaptischen Stadien wieder rückgängig gemachte Metasyndese in den späten Prophasen I abermals durchgeführt wird, bezüglich des Grades der Ausbildung dieser neuerlichen prophasischen Metasyndese aber eine große Variationsbreite herrscht, so daß bevor die Anaphase — der reduktionell erfolgenden — ersten Reifeteilung erreicht ist, eine völlige, lockere oder überhaupt keine Bindung homologer Chromosomen vor sich geht. Somit würde *Fasciola* ein vermittelndes Glied zwischen *Zoogonus* — nach GOLDSCHMIDTS Darstellung — und den übrigen bekannten Fällen darstellen und uns gewissermaßen die allmähliche Entstehung der Chromosomensyndese vor Augen führen. —

Bei diesem Stand der Frage erschien es nicht undankbar, an einem besonders günstigen Objekt, das mir der Zufall in Gestalt des im Dünndarm von *Salamandra maculosa* parasitierenden *Brachycoelium salamandrae* zuführte, die Erscheinung der Reife bei Trematoden neuerdings zu untersuchen. —

II. Spezieller Teil.

A. Material und Technik.

Brachycoelium salamandrae scheint ein ziemlich häufiger Parasit von *Salamandra maculosa* zu sein. Ich fand, wenn die Salamander überhaupt infiziert waren, fast regelmäßig eine ganze Anzahl (etwa 8—10) der etwa 5 mm langen Trematoden im Dünndarm. Konserviert wurde mit Carnoy, Sublimat-10% Eisessig!, Pikrin-Essigsäure und nach Benda. Die 5—10 μ dicken Schnitte wurden meist mit E.-H. gefärbt. Die 10 μ dicken Schnitte erwiesen sich dabei als bei weitem am vorteilhaftesten für das Studium der Chromosomenverhältnisse, da Kombinierungen aus mehreren Schnitten so meist unnötig wurden. Bewährt haben sich ferner mit Boraxcarmin und Schneiders Essigcarmin angefertigte Totalpräparate. — Erwähnt sei noch, daß die im Oktober/November 1911 konservierten Tiere sich für das Studium der Reifeteilungen durchwegs als ungünstiger erwiesen, als die im Frühjahr 1912 fixierten. — Bezüglich der Anatomie des Wurmes sei bemerkt, daß das unpaare Ovar etwa in der Höhe des Bauchsaugnapfes vor den paarigen Hoden liegt und die paarigen Dotterstöcke wenig über das vordere Drittel hinaus sich nach hinten erstrecken. — Die Embryonalentwicklung erfolgt im Muttertier. Die Tiere sind leicht zur Eiablage zu bringen; es ist mir aber trotz vieler Bemühungen niemals gelungen, die Miracidien zum Ausschlüpfen zu veranlassen, was freilich nicht wunder nehmen kann, da von den Brachycoeliinae überhaupt nur die Jugendform einer Art — nicht von *Br. salamandrae* — bekannt ist und die Bedingungen für das Ausschlüpfen der Miracidien dieser Arten daher dunkel sind.

B. Eibildung.

1. Ovogonien.

Das annähernd kugelrunde Ovar läßt in seinen äußersten Lagen Ovogonien und junge Ovocyten erkennen, deren Zellgrenzen im allgemeinen ziemlich deutlich sind. In »ruhenden« Ovogonienkernen findet man fast regelmäßig zwei scharfkonturierte chromatische Nucleolen (Fig. 1). Finden sich mehrere unregelmäßige chromatische Brocken im Kern, so ist das, wie sich durch Vergleich mit Vorkern- und Blastomerenkernbildung ergibt, darauf zurückzuführen, daß der Kern nach der letzten Teilung noch nicht sein endgültiges »Ruhestadium« erreicht hat. Ovogonienteilungen sind nicht allzu häufig. Jedoch sind mir genügend klare Teilungsstadien — besonders Metaphasen — zu Gesicht gekommen, um

in ihnen die Chromosomennormalzahl mit ziemlicher Sicherheit zu bestimmen. Sie beträgt 20 (Fig. 2).

Die einzelnen Chromosomen zeigen eine sehr verschiedene Größe, die sich in diesen Stadien wohl schwerlich auf verschiedene Grade der Kontraktion zurückführen läßt, zumal diese charakteristischen Größenverschiedenheiten in gleicher Weise auch in der Spermatogenese und in Furchungsteilungen auftreten. Es ließe sich die Gesamtheit der Chromosomen wohl auch ohne große Schwierigkeiten in ähnliche homologe Reihen auflösen, wie dies u. a. bei *Brachystola* (Sutton, 02) und *Anasa* (Paulmier 99, Wilson 06) geschehen ist. Ich sehe aber von dieser Seriierung ab, da dafür das vorliegende Objekt im ganzen doch nicht günstig genug ist. — Was die achromatischen Strukturen der Mitose betrifft, so sei gleich an dieser Stelle bemerkt, daß diese bei *Brachycoelium* der Beobachtung nicht günstig sind. Ich konnte nur in ganz wenigen Fällen Centrosomen und Centriolen beobachten, weshalb ich in der Folge diese Strukturen auch außer Betracht lassen werde. — Über plasmatische Einschlüsse in Ovogonien ist nicht viel zu sagen. Die in den synaptischen Stadien leicht nachzuweisenden Mitochondrien kann man weder mit der Bendaschen Methode — die sich überhaupt trotz zahlreicher Versuche bei dem vorliegenden Objekt wenig bewährt hat —, noch einer andern mit Sicherheit nachweisen.

2. Ovocyten.

Es ist nicht nur bei vorliegendem Objekt, sondern wohl überhaupt ganz allgemein sehr schwer zu entscheiden, ob der Übergang zu den synaptischen Stadien sich unter Einschaltung eines kontinuierlichen Spirems vollzieht, oder aber die Chromosomen der letzten Telophase direkt in die Schleifen des Leptonema eingehen. Auch bei *Brachycoelium* läßt sich absolute Sicherheit über diesen Punkt nicht erzielen, trotzdem sich in einer großen Zahl von Fällen mit großer Wahrscheinlichkeit der Chromatinfaden der jungen Ovocyten als einheitlich erweist (Fig. 3). Besonders ein Stadium, das sich offenbar an das vorige anschließt und in Fig. 4 dargestellt ist, macht mir die Existenz eines kontinuierlichen Knäuels wahrscheinlich. Man kann hier deutlich verfolgen, wie die feinen Teile des Fadens kontinuierlich in die dickeren übergehen, so offenbar die Bildung der leptotänen Schleifen vorbereitend. Ein Längsspalt in den dickeren Teilen des Knäuels kam nicht zur Beobachtung. Es schließt sich hieran ein leptotänes Bukettstadium (Fig. 5), in dem namentlich, wenn man das pachytäne Stadium mit der reduzierten Zahl zum Vergleich heranzieht, annähernd die Normalzahl der Schleifen zu beobachten ist,

wenn auch eine genaue Zählung nicht gelingt. Einwandfreie Bilder, die den Übergang von Fig. 4 zu Fig. 5 verständlich machen, sind mir nicht zu Gesicht gekommen, weder was das allmähliche Deutlicherwerden des Aufbaues der Schleifen aus Chromiolen noch was die Segmentierung des Knäuels anlangt. Ich muß aber aus später zu erörternden Gründen annehmen, daß eine unvollständige Segmentierung eintritt, indem jeweils zwei homologe Chromosomen endweise verknüpft bleiben, während der Knäuel sich längsspaltet, wodurch dann die Chromosomennormalzahl vorgetäuscht wird. An das leptotäne schließt sich das pachytäne Bukett (Fig. 6 u. 7) an, in dem man mit genügender Sicherheit die reduzierte Zahl — also 10 — feststellen kann. Der Aufbau der Schleifen aus biserial angeordneten Chromiolen ist hier noch auf weit vorgerückten Stadien deutlich erkennbar (Fig. 7). Was den Modus der Orientierung der Schleifen im Bukettstadium betrifft, so hatte ich in Anlehnung an die Vorstellungen Buchners (10) die Anwesenheit eines dem durch die Orientierung der Schleifen gegebenen Kernpol im Plasma gegenüberliegenden Centriols vermutet. Der Tatsache, daß der Nachweis eines solchen nicht sicher gelingt, kann ich indessen in Anbetracht der oben erwähnten Schwierigkeit, die Teilungsstrukturen bei *Brachycoelium* deutlich zu machen, eine besondere Bedeutung nicht beilegen. Besonders betonen möchte ich an dieser Stelle, daß mir eine einseitige Kontraktion des Chromatins während der synaptischen Stadien, also eine »Synapsis« im engeren Sinne (= »Synizesis« [McClung 05]) niemals zu Gesicht gekommen ist[1]. Zu erwähnen ist noch, daß sich während der ganzen synaptischen Stadien stets nur ein Chromatinnucleolus findet, der bis in die frühen Prophasen der Reifeteilungen persistiert (Fig. 3—12).

Im Zelleib treten in der Zeit zwischen Spirem und Leptonema Einschlüsse auf, die sich mit E.-H., Saffranin usw. intensiv chromatisch färben, bis zum Eindringen des Spermatozoons in das Ei erhalten bleiben, dann aber einer raschen Auflösung im Plasma verfallen und anscheinend keine weitere Rolle, zum mindesten als geformte Substanzen, spielen (Fig. 4 bis 11). Die Bildung dieser Einschlüsse erfolgt jedenfalls im Plasma, da Chromatinaustrittsfiguren mir niemals zu Gesicht gekommen sind und so charakteristische Bilder, wie sie z. B. Jörgensen (10) gibt, mir

[1]) Ich verstehe im Einklang mit den amerikanischen Autoren unter »Synaptischen Stadien« sämtliche Stadien der Ovo- und Spermatocyten bis zur Auflösung des pachytänen Buketts, dagegen unter »Synapsis« — im Gegensatz zu den amerikanischen Autoren — mit Grégoire und andern lediglich den Zustand einseitiger Zusammenballung der Chromatinfäden in der Zeit zwischen Leptonema und Pachynema, also das, was erstere mit »Synizesis« (Mc Clung 05), vgl. Wilson (12) bezeichnen.

sicher nicht entgangen wären. Um eine auf dem Bukettstadium bewirkte Trennung von Idio- und Trophochromatin (Goldschmidt 04, 10) kann es sich also wohl nicht handeln, da die mitochondrialen Substanzen bereits vor dem Leptonema auftreten (Fig. 4 u. 5). Wir können es aber auch nicht mit Vorstadien der Dotterbildung zu tun haben, da die Trematodeneier ja keinen Dotter bilden, dieser vielmehr von den Dotterzellen geliefert wird. Hinsichtlich Form und Art der Ablagerung dieser Substanzen mag noch erwähnt werden, daß sie sowohl als größere Brocken und Schollen (Fig. 4, 8, 9 u. 10) wie in Gestalt feiner Mitochondrien (Fig. 4, 5 u. 8) als auch als Stäbchen (Chondriokonten) auftreten können und häufig in einem schnabelartigen Fortsatz des Plasmas eingelagert sind (Fig. 4, 5 u. 8). Sie entsprechen sicherlich den von Goldschmidt (05) bei *Zoogonus* als chromidialer »Dotterkern« bezeichneten, bei *Fasciola* von Schubmann (05) — wohl ohne genügenden Grund — als Zerfallsprodukte gefressener Eizellen, von Schellenberg (11) dagegen »ohne Präjudiz für ihre Synthese« als Dotterkugeln aufgefaßten Bildungen.

Wenden wir uns nunmehr wieder dem Verhalten des Chromatins zu. An das pachytäne Bukettstadium der Fig. 6 u. 7 schließt sich ein Stadium der Desorientierung der Schleifen an (Fig. 8). Im weiteren Verlauf strecken sich die Chromatinschleifen stark in die Länge an Chromatizität stark einbüßend, bis schließlich eine Ovocyte mit annähernd reticulärer Kernstruktur resultiert (Fig. 9 u. 10). Auf diesem Stadium tritt das unreife Ei in den Oviduct ein und trifft im Ootyp mit Dotterzellen und Spermatozoen zusammen, wo dann nach Eindringen des Spermatozoon die Schalenbildung in der von Goldschmidt (09) näher geschilderten Art und Weise verläuft[1]).

3. Reifung.

Unmittelbar nach Eindringen des Spermatozoon beginnen im Eikern die Vorbereitungen zur Bildung der Reifungschromosomen. Das reticuläre Kerngerüst verliert seinen unregelmäßigen Charakter, indem feine,

---

[1]) An dieser Stelle sei eines Versuches Erwähnung getan, den ich angestellt habe, um etwas über den Mechanismus der polaren Orientierung des Buketts zu erfahren. Ich leitete den Strom von drei Chromsäureelementen mittels vorn und hinten eingestochener Platinelektroden, während $1/2$—2 Minuten durch den Körper der Tiere, die dann sofort, wie gewöhnlich, konserviert, geschnitten und gefärbt wurden. Ich konnte indessen in solchen Präparaten weder irgendeine Beeinflussung der Orientierung des Buketts — etwa der Art, daß alle Schleifen in die Richtung des Stroms eingestellt wären — noch eine Störung im Ablauf der Mitosen beobachten. Selbstredend sind aber, um einen Entscheid in dieser Richtung herbeizuführen, ausgedehnte Versuche unter Beobachtung aller Kautelen notwendig.

langgestreckte, zunächst noch fast achromatische Fäden den Kern durchziehen, die häufig einen deutlichen Parallelismus erkennen lassen (Fig. 11). Selbst auf diesen frühen Stadien kann man in einzelnen Fällen bereits deutlich die späteren bivalenten Chromosomen der Prophasen I erkennen. In der Fig. 11 läßt sich das mit x bezeichnete bivalente Element unschwer mit dem ebenso bezeichneten der Fig. 12—14 homologisieren. In dem Maße nun, wie der Chromatinnucleolus an Chromatizität abnimmt, um schließlich auf dem Stadium der Fig. 13 und 14 ganz zu verschwinden, nimmt die Chromatizität und schärfere Individualisierung der Reifungschromosomen zu (Fig. 12—14). Ihre Duplizität wird immer deutlicher (Fig. 12) und bereits auf diesem Stadium — es handelt sich bei Fig. 12 um ein Totalpräparat — kann man deutlich die reduzierte Zahl 10 feststellen. Die im weiteren Verlauf der Prophasen I auftretenden Chromosomenbilder zeigen eine große Variabilität. Man findet X-, U-, V- und 8-förmige, sowie die bekannten Zopfformen (Fig. 12—14). Besonderes Gewicht möchte ich dabei bereits hier auf die U-, V-, und zopfförmigen Elemente legen, da selbst bei letzteren sich in der überwiegenden Zahl der Fälle feststellen läßt, daß die beiden univalenten Elemente, die den Zopf bilden, an einem Ende zusammenhängen, während die freien Enden auseinanderklaffen. — In Fig. 32 ist ein Ei abgebildet, das ohne befruchtet zu werden, beschalt worden ist. Auffallend ist an diesem pathologischen Fall das Persistieren des Chromatinnucleolus, der in normalen Eiern auf diesem Stadium (Fig. 14, 15) bereits verschwunden ist. Auffallend ist ferner, daß die Kernmembran nicht aufgelöst worden ist — ein Vorgang, der doch natürlich unabhängig vom Eindringen des Spermatozoon ist — und das Ei keinerlei Teilungsenergie zeigt.

Während der für das normale Ei beschriebenen Vorgänge hat der langgestreckte Spermakopf, der sich dem Eikern dicht anlegt, sich mehr und mehr konzentriert, so daß er nach erfolgter Auflösung der Kernmembran als ein kompakter, massiger Körper abseits von den allmählich in die Metaphase einrückenden Reifungschromosomen liegt (Fig. 13—15). Als solcher bleibt er während der ganzen ersten Reifeteilung — im Gegensatz zur zweiten — erhalten, woran man leicht erkennen kann, ob es sich um eine erste oder zweite Reifeteilung handelt. Um diese Zeit tritt eine undeutliche achromatische Teilungsfigur auf, in deren Mitte sich die nach und nach zu deutlich längsgespaltenen Stäbchen gewordenen zehn bivalenten Reifungschromosomen einordnen (Fig. 15—17). Die erste Reifeteilung trennt die bivalenten Elemente dem Längsspalt nach (Fig. 17 und 18). Da dieser Längsspalt — wie später noch erörtert werden soll — nach meinen Beobachtungen so zu erklären ist, daß die ursprünglich

endweise (metasyndetisch) verknüpften bivalenten Elemente im Bukett und eventuell noch in späteren diakinetischen Stadien eine Umbiegung erfahren, dergestalt, daß sie schließlich in eine zueinander parallele Lagerung gelangen — »Faltungstheorie« (Farmer und Moore 03, 04; Montgomery 03, 04, 05; Strasburger 04) — wodurch der Parallelismus bzw. die Duplizität der Fäden in frühen Prophasen I zu erklären ist —, so ist die erste Reifeteilung als Reduktionsteilung aufzufassen. — In den Ana- bzw. Telophasen der ersten Reifeteilung kann man sowohl in Seiten- (Fig. 18) als auch Polansichten (Fig. 19) deutlich die reduzierte Zahl feststellen. Die zweite Reifeteilung schließt sich offenbar sehr schnell an die erste an, so daß klare Übergangsbilder mir nicht zu Gesicht gekommen sind. Der auf dem Stadium der Fig. 19 noch kompakte Spermakopf hat sich auf Fig. 20 bereits in die einzelnen Chromosomen aufgelöst, die fast kontinuierlich in die in die Metaphase einrückenden Chromosomen der zweiten Richtungsteilung übergehen. Eine deutliche Sonderung beider Gruppen zeigt die zwischen Meta- und Anaphase liegende Fig. 21. Die telophatischen Stadien (Fig. 22) gestatten selten noch eine genaue Zählung der Chromosomen (der Spermakopf ist auf dieser Figur nicht mitgetroffen). — Die achromatische Figur ist auch in der zweiten Reifeteilung nicht sehr deutlich. Sie durchzieht das Ei von einem zum andern Pol, jene für Trematoden und Turbellarien so sehr charakteristische Gestalt der zweiten Richtungsspindel (Fig. 21 u. 22) (vgl. Goldschmidt 02, 05, 08; Halkin 01; Bresslau 04; Kathariner 04). Unmittelbar nach Abschluß der zweiten Reifeteilung setzt die ebenfalls für Trematoden so charakteristische Karyomeritenbildung ein. Ob sich dabei jedes einzelne Chromosom zu einem wohl ausgebildeten Caryomeriten umbildet, konnte ich mit Sicherheit nicht entscheiden. Sicher ist nur, daß die Chromosomen jedes Vorkernes ihre Karyomeriten getrennt ausbilden, daß die zugehörigen Karyomeriten allmählich verschmelzen und das Resultat dieses ganzen Vorganges die Bildung zweier typischer Vorkerne mit je einem Chromatinnucleolus ist (Fig. 23—27). Die Entstehung der Chromatinnucleolen läßt sich dabei ziemlich genau verfolgen. Die einzelnen Karyomeriten haben entweder gar keine oder nicht sehr distinkte chromatische Nucleolen. In dem Maße aber, wie die Chromatizität der reticulären Struktur der Karyomeriten abnimmt, nimmt das Deutlichwerden der Chromatinnucleolen zu, bis schließlich zwei Vorkerne mit achromatischem Reticulum und je einem scharf umschriebenen Chromatinnucleolus resultieren (Fig. 23—27). Man kann bei diesem Prozeß deutlich verfolgen, wie die chromatische Substanz des Reticulums zur Bildung des Nucleolus zusammenströmt (Fig. 26).

C. Furchungsteilungen.

Auf dem Stadium der Fig. 27 bleiben die Vorkerne meistens bis zu den Prophasen der ersten Furchungsteilung. In einigen wenigen Fällen habe ich indessen auch ein Konfluieren der beiden Vorkerne beobachtet (Fig. 28). Aber auch in diesen Fällen scheint ♂ und ♀ Anteil voneinander getrennt zu bleiben, da sich die beiden Chromatinnucleolen selbstständig erhalten und jeder deutlich den Mittelpunkt eines strahligen achromatischen Systems bildet (Fig. 28). — In dem Maße nun, wie die Chromosomenbildung in den Vorkernen fortschreitet, verschwinden die zugehörigen Chromatinnucleolen, so daß man über Stadien, die etwa der Fig. 26 entsprechen, zu den prophatischen der Fig. 29 gelangt. Letztere Figur zeigt deutlich die getrennte Chromosomenbildung der beiden Vorkerne, die beiden Chromatinnucleoli sind verschwunden. In der nun folgenden Metaphase der ersten Furchungsteilung lassen sich wieder die charakteristischen Größenverschiedenheiten der einzelnen Chromosomen feststellen. Ihre Zahl läßt sich leicht auf 20 bestimmen (Fig. 30, 31 *a* u. *b*). Ich habe die Furchungsteilungen nicht weiter verfolgt. Erwähnt sei nur, daß in der Folge sich in den Ruhekernen der Blastomeren zwei Chromatinnucleolen feststellen lassen, womit also auch die »Normalzahl« der Nucleolen wieder hergestellt ist.

D. Samenbildung.

Ich habe die Spermatogenese nur bis zu den Prophasen der ersten Reifeteilung verfolgt, da es mir lediglich darauf ankam, einen Vergleich mit den Chromosomenverhältnissen der Ovogenese zu gewinnen, vor allen Dingen, was die Frage nach dem »Primärtypus« anlangt. Denn es liegt ja auf der Hand, daß, wenn sich in der Eibildung ähnliche Verhältnisse wie bei *Fasciola* (Schellenberg) oder gar *Zoogonus* (Goldschmidt) gezeigt hätten, solche auch für die Samenreifung zu fordern gewesen wären. Da das, wie wir gesehen haben, für die Eibildung nicht der Fall ist, war auch für die Samenbildung etwas Derartiges nicht zu erwarten, was die nähere Untersuchung vollends bestätigte.

1. Spermatogonien.

Die paarigen Hoden liegen hinter dem Ovar zu beiden Seiten des Körpers. Ihr Wandbelag wird von den Spermatogonien gebildet, die im Zustand der Ruhe wie die Ovogonien ein achromatisches Kernreticulum und meist zwei Chromatinnucleolen aufweisen (Fig. 33). Mitosen finden sich nicht allzuhäufig. Die Zahl der Chromosomen läßt sich in

ihnen, wie zu erwarten, auf 20 bestimmen (Fig. 34*a* u. *b*), wobei wieder die typischen Größenverschiedenheiten wie in Ovogonien- und Furchungsmitosen auftreten.

2. Spermatocyten.

Die synaptischen Stadien entsprechen so völlig denen der Eibildung, daß ich auf eine Illustration derselben verzichten kann. Ob zwischen die letzte Spermatogonientelophase und Leptonema ein kontinuierliches Spirem eingeschaltet ist oder nicht, lasse ich unentschieden, möchte mich aber eher für, als gegen eine solche Annahme aussprechen. Die leptotänen Stadien sind denen der Ovogenese völlig gleich, ebenso die pachytänen, von denen eines in Fig. 35 abgebildet ist. In ersteren dürfte annähernd — eine genaue Zählung ist nicht durchführbar — die Normalzahl auftreten, letztere gestatten mit ziemlicher Sicherheit die Feststellungen der reduzierten Zahl 10 (Fig. 35). Zum Unterschied von der Ovogenese fehlen jedoch die bei letzterer nun folgenden Stadien der Auflösung des Buketts, Bildung des Ruhekernes und Wachstumsperiode im engeren Sinne (Fig. 8—11). Vielmehr folgen auf pachy- bzw. diplotänes Bukett sofort die in Fig. 36 und 37 dargestellten Prophasen der ersten Reifeteilung. Man findet auch hier wieder die für das reifende Ei beschriebenen U-, V-, 8-, schleifen- und zopfförmigen Figuren mit den charakteristischen Größenverschiedenheiten und in der reduzierten Zahl 10 (Fig. 36 u. 37). — Die folgenden Stadien des Reifungsprozesses sind schwer zu verfolgen. Da sie offenbar sehr schnell aufeinanderfolgen, sind klare Bilder der Meta- und Anaphasen der beiden Reifeteilungen äußerst selten. Ich verzichte daher auf eine Darstellung dieser Verhältnisse um so lieber, als ich ja die Spermatogenese nur zum Vergleich herangezogen habe und die entscheidenden Stadien die volle Übereinstimmung mit der Eibildung ergeben haben. Es kann wohl nicht zweifelhaft sein, daß auch hier die ursprünglich metasyndetisch verbundenen Chromosomen auf dem Bukettstadium eine Umklappung erfahren, wodurch sie parallel (parasyndetisch) zueinander gelagert werden, daß die erste Reifeteilung die beiden Paarlinge voneinander trennt, während die zweite äquationell verläuft, wir es also auch hier mit einem heterohomeotypischen Reifungsmodus zu tun haben.

Über die Mitochondrien der Samenzellen ist wenig zu sagen. Es finden sich ähnliche, nur weniger klare Bilder wie in der Ovogenese, sodaß ich, um Wiederholungen zu vermeiden, auf diese verweisen kann; daß die Mitochondrien der Samenzellen schwer darzustellen sind, mußte auch Dingler (10) erfahren, dem es nur in einem Falle glückte, klare Bilder dieser Verhältnisse zu gewinnen.

E. Vergleich der Zellgrößenverhältnisse zwischen Ei- und Samenreife.

An dieser Stelle möge noch ein Vergleich der Zellgrößenverhältnisse zwischen Ei- und Samenreife eingeschaltet sien. Genaue Messungen habe ich nicht durchgeführt, weil die Fehlerquellen bei konserviertem und geschnittenem Material, ganz abgesehen von den individuellen Schwankungen, dabei zu groß sind und die Größenverhältnisse, auf die es ankommt, in den stets bei gleicher Vergrößerung (Zeiss Hom.-Imm. 2 mm, Comp.-Oc. 12, 145 mm Tubusl., Objekttischhöhe) gezeichneten Figuren ohnedies deutlich genug sind. — Ovo- und Spermatogonien zeigen im Ruhestadium und in den Mitosen annähernd dieselben Abmessungen vom Plasma und Kern (Fig. 1, 2, 33, 34*a* u. *b*). Das bleibt so, bis etwa zum pachytänen Bukett (Fig. 6 u. 35). Während hier aber bei der Samenreifung das Ende des Wachstums erreicht ist, setzt beim Ei das eigentliche Wachstum erst ein. So ergibt sich denn, daß die Ovocyten auf dem Stadium der Fig. 12—15 im Raume etwa dreimal so groß sind, als die auf gleichem Stadium befindlichen Spermatocyten der Fig. 36 und 37, also immerhin noch eine beträchtliche Größenzunahme des Eies gegenüber den Spermatocyten. Auf theoretische Erörterungen mit Rücksicht auf die von R. Hertwig (03, 07, 08), Popoff (07a, 07b u. 08) und Wassilieff (07) geäußerten Vorstellungen bezüglich Wachstum und Dotterbildung des Eies soll weiter unten noch eingegangen werden.

III. Allgemeiner Teil.

A. Die Chromatinnucleolen in Ovo-, Spermatogenese und Furchung.

1. Gonomerer Kernzustand und Pseudoreduktion der Nucleolen.

Wir sahen, daß im Laufe der Ei-, Samenbildung und Furchung sowohl charakteristische Zahlenverhältnisse der Chromatinnucleolen als auch gewisse Beziehungen zur Ausbildung der Chromosomen zu beobachten sind, die eine Erklärung fordern. Wir sahen, daß in »ruhenden« Ovogonien und Spermatogonien sich meist zwei Chromatinnucleolen finden, daß dagegen während der synaptischen Stadien und in den Prophasen I ebenso wie in den ausgebildeten Vorkernen nur je ein solcher Nucleolus auftritt, daß ferner, wenn es ausnahmsweise zu einem Verschmelzen der beiden Vorkerne kommt (Fig. 28), auch die beiden Chromatinnucleolen erhalten bleiben, ebenso wie das in den späteren Furchungskernen der Fall ist. Das alles deutet zunächst darauf hin, daß väterliche und mütterliche Kernanteile eine weitgehende Selbständigkeit (»Gono-

merie« [Häcker]) bewahren können, Verhältnisse, wie sie seit den Häckerschen (02) Untersuchungen an Copepoden ja vielfach beobachtet wurden. Meine Beobachtungen stimmen in dieser Hinsicht durchaus mit denen Häckers überein, auch darin, daß besonders in Ovo- und Spermatogonienkernen die Duplizität der Chromatinnucleolen oft verwischt ist, eine Tendenz, den gonomeren Kernzustand aufzuheben, hervortritt. Ähnliche Beobachtungen hat auch Dingler (10) gemacht, dem es auffiel, daß im Hoden von *Dicrocoelium* die eine Hälfte der Spermatogonien zwei, die andre dagegen nur einen Chromatinnucleolus besaß. Die Tendenz, den gonomeren Kernznstand aufzuheben, erreicht ihren Höhepunkt während der synaptischen Stadien. Wie schon erwähnt, findet man in Ovo- und Spermatogenese vom leptotänen Knäuel bis in die Prophasen I stets nur einen Chromatinnucleolus. Ich möchte auf diese »Pseudoreduktion« der Nucleolen besonderes Gewicht im Hinblick gerade darauf legen, daß ja in diesen Stadien auch die Pseudoreduktion der Chromosomen stattfindet und daß dementsprechend in den reduzierten Vorkernen bei der Ausbildung der Chromatinnucleolen niemals eine Duplizität derselben auftritt. Ich möchte diesem Verhalten auch deswegen Bedeutung beimessen, weil sich zum mindesten bei dem von mir untersuchten Objekt unzweifelhafte Beziehungen zwischen Chromosomenausbildung und Chromatinnucleolen ergeben haben.

2. Die Beziehungen zwischen Chromatinnucleolen und Chromosomen.

Es liegen eine Anzahl Angaben in der Literatur vor, die zu beweisen suchen, daß die Chromosomen des wachsenden Eies in den Nucleolus eingehen und aus diesem bei den Vorbereitungen zur Reifeteilung wieder hervorgehen. Ich übergehe hierbei die Angaben über das Amphibienkeimbläschen, da sich hierüber eine kritische Behandlung bei Jörgensen (10) findet. Für *Asterias glacialis* gibt Hartmann (02) sowie Günther (04) eine Entstehung bzw. Abgabe der Chromosomen aus dem Nucleolus an. Ferner Wilson (01a, 01b) ebenfalls für Echinodermen, Goldschmidt (02) für *Polystomum*, v. Janicky (03) und Kathariner (04) für *Gyrodactylus*, Jordan (10) für *Echinaster* — nachdem er früher (07, 08) eine gegenteilige Meinung geäußert hatte — sowie Retzius (10) gleichfalls für Echinodermen (*Parechinus*). Für die Spermatogenese von *Aphis saliceti* kommt v. Baehr (09) zu dem Schluß: »Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß die sich ausbildenden Chromosomen ihre Substanz aus dem Nucleolus beziehen.« Ganz ähnlich äußerte sich Janssen (05) bezügl. der Beziehungen zwischen »Chromoplast« (Chromatinnucleolus) und Chromo-

somen in der Spermatogenese von *Batrachoceps*. — Vgl. ferner: DAVIS (05), WILSON (09), JORDAN (10) und STAUFFACHER (10, 11). — Es hat sich nun für die an Echinodermen gemachten diesbezüglichen Beobachtungen herausgestellt, daß es sich dabei wohl um Beobachtungsfehler der Autoren handelt, da nach BUCHNER (11) im Echinodermenkeimbläschen die Chromosomen stets neben dem Nucleolus als chromatische Brocken darstellbar sind. Ob die Verhältnisse bei Trematoden sich in gleicher Weise erklären lassen, ist indessen fraglich. — Es kann wohl keinem Zweifel unterliegen, daß in der Mehrzahl der bisher darauf untersuchten Fälle die Nucleolen keinerlei innigere Beziehungen zur Ausbildung der Chromosomen erkennen lassen. Das zeigen deutlich die Fälle von langer Persistenz der Nucleolen, nach Ausbildung der Chromosomen, z. B. bei Mollusken, Anneliden (*Myzostoma*! [WHEELER 97]) u. a. Dagegen ist vielfach ein Anheften der Chromosomen an den Nucleolus beobachtet u. a. z. B. von CONKLIN (02), LILLIE (06), LAMS (10), besonders instruktiv von BRAUN (09) und MATSCHEK (10). Eine Genese der Chromosomen auf Kosten des Nucleolus wird aber von diesen Autoren durchaus in Abrede gestellt. — Wie liegen nun die Verhältnisse bei Trematoden?

Der GOLDSCHMIDTschen Befunde an *Polystomum* sowie der von JANICKI und KATHARINER für *Gyrodactylus* wurde schon Erwähnung getan. Für *Polystomum* kam HALKIN (02) zu einer der GOLDSCHMIDTschen Auffassung entgegengesetzten, obgleich, wie GOLDSCHMIDT durchaus mit Recht bemerkt, seine Figuren das Gegenteil beweisen. Auch auf den HALKINschen Figuren ist deutlich zu sehen, daß während der frühen Prophasen I in dem Maße, wie die Chromosomen beginnen chromatisch zu werden, der Chromatinnucleolus an Substanz abnimmt, um am Ende der Chromosomenausbildung ganz zu verschwinden. Ganz ähnliche Bilder gibt v. JANICKY (03) und besonders KATHARINER (04) für *Gyrodactylus*, weshalb sich letzterer denn auch durchaus der GOLDSCHMIDTschen Auffassung anschließt. Auch für *Zoogonus* (05) kommt GOLDSCHMIDT zu der Anschauung, daß der Chromatinnucleolus sich zum mindesten am Aufbau der Chromosomen beteiligt, wenn auch nicht die alleinige Muttersubstanz derselben darstellt. SCHUBMANN (05) kommt für *Fasciola* zu dem gleichen Resultat, während SCHELLENBERG (11) für dasselbe Objekt einen weniger innigen Zusammenhang zwischen Chromosomen und Nucleolus beobachtet, trotzdem auch nach diesem Autor die Chromatizität des Nucleolus in dem Maße abnimmt, wie die der Reifungschromosomen zunimmt. Wie sich die Verhältnisse bei *Dicrocoelium* ♀ (GOLDSCHMIDT 08) und *Dicrocoelium* ♂ (DINGLER 10) gestalten, ist von

den beiden Autoren nicht weiter verfolgt worden. Nach ihren Abbildungen zu schließen verhält sich *Dicrocoelium* ähnlich wie die übrigen Trematoden. — Wenn wir uns nun nochmals die Sachlage bei *Brachycoelium* vergegenwärtigen, so ergibt sich folgendes: Ruhende Ovo- und Spermatogonien (Fig. 1 u. 23) zeigen ein achromatisches Kernnetz mit zwei Nucleolen. In dem Maße, wie vor Mitosen die Chromatizität des Kerngerüstes zunimmt, schwindet die der Nucleolen. Von den Pro- und Metaphasen an (Fig. 2 u. 34 *a* u. *b*) sind Chromatinnucleolen nicht mehr zu beobachten. Ähnliche Verhältnisse zeigen Ovo- und Spermatocyten bei den Vorbereitungen zur ersten Reifeteilung (Fig. 10—15 und 35—37). Wenn die Reifungschromosomen ausgebildet sind, ist der Chromatinnucleolus verschwunden. Abweichend verhält sich in dieser Hinsicht nur das pathologische (unbefruchtete) Ei der Fig. 32, wie bereits oben erwähnt. Wenn nach Befruchtung und Reifeteilung die Karyomeriten- und Vorkernbildung einsetzt, sieht man deutlich, wie die Chromatinnucleolen allmählich durch Zusammenfließen chromatischer Substanzen entstehen, so daß die Ruhekerne wieder je einen Chromatinnucleolus enthalten, die umgekehrt wieder in dem Maße verschwinden, wie die Chromosomen der ersten Furchungsmitose erscheinen (Fig. 23—30). Ich hebe ausdrücklich hervor, daß sich alle diese Stadien aus ein und demselben Objektträger zusammenstellen lassen, also nicht etwa Produkte ungleicher Differenzierung sind. Daß sich die Chromatinnucleolen mit sämtlichen sogenannten »Chromatinfarbstoffen«, z. B. Delafield, Saffranin und Carmin ebenso intensiv chromatisch färben, wie die Chromosomen, brauche ich kaum besonders zu erwähnen. Besonders instruktiv sind auch die Resultate der Benda-Färbung. Selbst bei maximaler Differenzierung mit 100%iger (statt 30%iger) Essigsäure findet man die Chromosomen in sämtlichen mitotischen Stadien ebenso intensiv violett gefärbt, wie den Nucleolus im ruhenden Kern. Dagegen ist das Gerüstwerk der ruhenden Kerne ebenso wie die Schleifen der synaptischen Stadien braun tingiert. — Sofern man also überhaupt an konserviertem Material von färberischen und morphologischen Wechselbeziehungen zwischen den Komponenten ein und desselben Zellbestandteiles auf solche vital-physiologischer Natur schließen will — eine in der Cytologie ja allgemein angewandte Methode —, so ist man genötigt, die beschriebenen Vorgänge so aufzufassen, daß bei Trematoden, wenn man von den Verhältnissen bei *Brachycoelium* auf die Gruppe der Trematoden exemplifizieren darf, wozu die vorliegenden Beobachtungen zwingen, die Chromosomen der Mitose einen Teil ihrer Substanz von den Chromatinnucleolen beziehen und umgekehrt. Es verdient an dieser Stelle erwähnt zu werden, daß

ältere Autoren, wie FLEMMING und OSKAR HERTWIG von einem innigen Zusammenhang zwischen Chromatinnucleolen und Chromosomenausbildung überzeugt sind. Besondere Beachtung verdienen in dieser Hinsicht aber die Untersuchungen KORSCHELTS (95) an *Ophryotrocha* und die R. HERTWIGS (98) an *Actinosphaereum*. Beide Autoren kommen im wesentlichen — wenn auch in Einzelheiten vielfach abweichend — zu der Auffassung, daß die Substanz der Nucleolen in die Chromosomen der Mitose eingeht und umgekehrt. — Im gleichen Sinn spricht sich FEDERLEY (13) in einer soeben erschienenen Untersuchung der Spermatogenese von *Pygaera* aus. Besonderes Interesse für diese Frage aber bietet die gleichfalls während der Drucklegung dieser Mitteilung erschienene Untersuchung BROWNES (13) über die Spermatogenese von *Notonecta*. Bei diesem Objekt läßt sich genau verfolgen, wie die Chromosomen bei Beginn der Wachstumsperiode sich in einem Plastinnucleolus kondensieren. Aus diesem Körper, der nunmehr als »Karyosphäre« bezeichnet wird, differenzieren sich in den Prophasen I die Chromosomen heraus! Diese Befunde dürften die oben skizzierte Auffassung aufs beste stützen.

Ich möchte hier gleich betonen, daß obige Auffassung gegen die Lehre von der Chromosomenindividualität nicht das mindeste beweist. Im Gegenteil! Ich halte es für diese Lehre mit BOVERI (04), HÄCKER (07) und JÖRGENSEN (10) nicht nur für belanglos, sondern sogar für fruchtbar, wenn das Schwergewicht dabei auf das Achromatin verlegt wird. Und selbst wenn sich zeigen sollte, daß das gesamte Chromatin der Chromosomen sich in einen Nucleolus kondensieren kann, würde das nichts gegen die Individualitätslehre beweisen. Denn schließlich ist der Kopf eines Spermatozoon ja auch nichts andres als ein »Chromatinnucleolus« und trotzdem wissen wir aus den Befunden, bei Insckten, Nematoden u. a., daß aus einem kompakten Spermakopf Vorkerne mit und solche ohne Heterochromosomen und Autosomen mit charakteristischen Größenverschiedenheiten hervorgehen. — So halte ich es denn für bedenklich, bei unsern geringen Kenntnissen über die Physiologie der Nucleolen (vgl. JÖRGENSEN 13) generell von »niedrig organisierten« Nucleolen (BUCHNER 10) zu sprechen, denn es kann ohnedies keinem Zweifel unterliegen, daß die Bezeichnung »Nucleolus« einen Sammelnamen für die heterogensten, physiologisch völlig verschiedenartigen Dinge darstellt.

B. Die Wachstumsperiode.

1. Die Synapsis (»Synezisis«).

Die Frage nach physiologischer Existenz und Bedeutung der Synapsis ist viel diskutiert worden, seit man zufolge der v. WINIWARTERschen (00),

Janssenschen (05, 08) und Schreinerschen (06) Auffassung in ihr den Ausdruck des wichtigsten Stadiums der Geschlechtszellenreifung: Der gegenseitigen Aufsuchung und Paarung homologer väterlicher und mütterlicher Chromosomen gesehen hat. Mit der Mehrzahl der Autoren (vgl. u. a. Häcker [07], Grégoire [10], Wassermann [12]) teile ich die Auffassung, daß die Form der Synapsis, wie sie am konservierten Material zu beobachten ist, ein Kunstprodukt ist, daß man hingegen für die Zeit, in die die Synapsis fällt, einen Zustand des Kernes annehmen muß, der in irgendeiner Weise das Auftreten dieses Phänomens besonders begünstigt, daß man also, wie Wassermann mit Recht betont, darnach trachten muß, so zu konservieren, daß man die synaptische Kontraktion vermeidet. Wie oben erwähnt, sind mir bei *Brachycoelium* in gut konserviertem Material Bilder einer synaptischen Zusammenballung nicht zu Gesicht gekommen.

2. Wachstum und Dotterbildung.

Die im Bukettstadium zu beobachtende Duplizität der Schleifen ebenso wie die gleiche Erscheinung in dem auf das Pachynema folgenden strepsitänen (diplotänen) Kernzustand hatten R. Hertwig (07, 08) und seinen Schüler Popoff (07, 08) zu der Auffassung geführt, daß es sich hierbei um eine unterdrückte Teilung handelt. Nicht erklärt wird hiermit indessen, wie Jörgensen (10) mit Recht betont, die polare Orientierung der Schleifen im Bukett; eine Erscheinung, die doch normalerweise in den Vorstadien der Teilung nicht zu beobachten ist. Nach Hertwig und Popoff erklärt sich aus den nicht durchgeführten Teilungen auch das Wachstum und die Dotterbildung des Eies. Die unterdrückten Teilungen haben ein Wachstum von Plasma und Kern zur Folge. Besonders die zweite unterdrückte Teilung führt beim Ei zu einem Riesenwachstum. Die Eizelle gerät — in Analogie mit den Erfahrungen an Protozoen — in tiefe »Depression«, was sich auch dadurch zu erkennen gibt, daß das zugeführte Nährmaterial nicht mehr verarbeitet werden kann, sondern »als eine synthetisch niedrigere organische Gruppe im Zellplasma eingelagert wird« (Popoff 08).

Diese Auffassung ist nicht ohne Widerspruch geblieben. Besonders was die Spermatogenese anlangt, hat sich Grégoire (08) gegen sie gewandt. da hier nach dem Pachynema die Teilung wirklich durchgeführt und nicht »unterdrückt« wird. Aber auch Buchner (09) kann sich ihr in manchen Punkten nicht anschließen. Was zunächst die als unterdrückte Teilungen betrachteten lepto-pachytänen und diplotänen Stadien betrifft, so ist wohl der in ersteren auftretende Längsspalt nicht als

»unterdrückte Teilung«, sondern vielmehr, als der so häufig (vgl. hierüber Déhorne [11]) beobachtete sekundäre Längsspalt der Chromosomen der letzten gonialen Telophase aufzufassen. Was das diplotäne (strepsitäne) Stadium betrifft, so wäre die Hertwigsche Erklärung annehmbar, wenn es sich hier tatsächlich um einen Längsspalt handelte. Denn es ist sehr auffallend, daß in der Spermatogenese, wo die Teilung nicht »unterdrückt« wird, im Gegensatz zur Ovogenese kein, oder nur ein geringfügiges Wachstum zwischen diplotänem Stadium und Reifeteilungen erfolgt. Läßt sich dagegen zeigen, daß im diplotänen Stadium statt eines Längsspaltes eine Konjugationsebene vorliegt, so ist die Hertwigsche Auffassung nicht durchführbar. Für *Brachycoelium* muß ich mich, worauf noch zurückzukommen sein wird, auf letzteren Standpunkt stellen. Daß im Falle von *Paludina*, wo nach Popoff (07) das diplotäne Stadium durch Querteilung gemäß der »achromatischen Brücke« erfolgt, die Hertwigsche Erklärung nicht zulässig ist, hat Buchner (09) mit Recht betont.

Wie verhält es sich nun mit den Größenverhältnissen bei der Reifung der Geschlechtszellen von *Brachycoelium*? Vergleichende Messungen zwischen Spermatocyten I (Fig. 36, 37) und Eiern der Stadien Fig. 13—15 lehren, daß die Ovocyten ungefähr das dreifache Volumen besitzen, also immerhin ein nicht unbeträchtliches Wachstum gegenüber den Spermatocyten. Um eine bessere Ernährung der Eizellen kann es sich kaum handeln, da ihrem anatomischen Bau nach Ovar und Hoden bei Trematoden gleich günstige Ernährungsbedingungen bieten und irgendwelche besondere Nähreinrichtungen für die Eier wie Follikel, Nährkammern, Nährzellen oder dergleichen fehlen. Bleiben also nur innere, noch unbekannte Faktoren, die für das Eiwachstum verantwortlich zu machen sind, da bei dem völlig gleichartigen Verlauf von Ovo- und Spermatogenese bis zum strepsitänen Stadium nicht zu verstehen ist, warum in der Spermatogenese die beiden Reifeteilungen sofort, in der Ovogenese dagegen erst nach einer Zeit des Wachstums durchgeführt werden. — Wie liegen nun die Verhältnisse bei der Dotterbildung? Die oben erwähnte Popoffsche Anschauung halte ich nicht für durchführbar (vgl. auch Jörgensen [10]). Denn erstens konnte ich (12) an hungernden Ascariden zeigen, daß die Eier unter diesen Umständen ihre Glykogenvorräte aufbrauchen, also keineswegs »gelähmt« sind. Ferner macht die Popoffsche Auffassung nicht verständlich, warum so große Eier, wie etwa die der Echinodermen, arm oder gar frei von Dotter sind. Schließlich müßte man nach Popoff auch eine Leberzelle, die Fett- und Glykogen speichert, als »gelähmt« bezeichnen, wozu man sich wohl kaum entschließen dürfte. —

Was *Brachycoelium* anlangt, so treten während der Wachstumsperiode, wie auch sonst bei Trematoden, chromatische Massen im Plasma auf, von GOLDSCHMIDT (05) bei *Zoogonus* als »Dotterkern« chromidialen Ursprungs, von SCHELLENBERG (11) bei *Fasciola* als »Dotterkugeln« unbekannter Genese bezeichnet. Um eigentlichen Dotter kann es sich jedoch nicht wohl handeln, da dieser ja von den Dotterzellen geliefert wird, die fraglichen Substanzen überdies bei Auflösung der Kernmembran in der Prophase I verschwunden sind. Ihre Bedeutung und Genese ist durchaus dunkel. Zwar habe ich die Substanzen häufig in unmittelbarer Nähe der Kernmembran gefunden (Fig. 9, 10). Von einer Abstammung aus dem Kern bin ich aber nicht überzeugt, möchte daher auch nicht glauben, daß es sich dabei um »Trophochromatin« (LUBOSCH 02, GOLDSCHMIDT 05) handelt, da ja überdies die von GOLDSCHMIDT geforderte Trennung von Idio- und Trophochromatin auf dem Bukettstadium erfolgen soll. Aber selbst, wenn die Scheidung in Idio- und Trophochromatin zu Recht besteht, wäre eine so gewaltsame Trennung — wie sie GOLDSCHMIDT annimmt — nicht recht verständlich. Die Erfahrung an manchen Nucleolen und andern Kernbestandteilen, die nicht mit in die Reifungschromosomen eingehen (vgl. z. B. KÜHN [08], Fig. 28—40), lehren, daß solche Substanzen erst nach der Kernauflösung ins Plasma gelangen, also keinerlei gewaltsame Entfernung erfolgt.

3. Die Chromidienfrage.

Einige Worte seien noch der Chromidienfrage gewidmet, die jüngst durch JÖRGENSEN † (13) eine kritische Würdigung gefunden hat. — Meine Stellungnahme (12) ist durch die zahlreichen reich illustrierten Publikationen SCHAXELS (10, 11, 12) über den gleichen Gegenstand nicht erschüttert worden. An der Richtigkeit des SCHAXELschen Schemas (Chromasie des Kernes — Achromasie des Plasmas — Achromasie des Kernes — Chromasie des Plasmas) zweifle ich für die von ihm untersuchten Objekte durchaus nicht, wohl aber an der Richtigkeit der daraus gezogenen Schlüsse. — Bei unsern färberischen Verfahren bieten wir einer Unzahl chemisch höchst differenter Körper — die noch dazu durch die Fixierung stark verändert worden sind — einen oder zwei Farbstoffe an. Die Annahme des Farbstoffes soll nun entscheidend sein für die Identität zweier oder mehrerer Substanzen! Konsequenterweise müßte die »Nichtannahme« für die Identität ebenso »beweisend« sein! Man mache sich nur klar, welche Ungeheuerlichkeit es wäre, aus der Tatsache, daß sich etwa von einer Reihe der verschiedensten Fasern eine Anzahl mit einer Farblösung gleich färbt, auf gleiche chemische Be-

schaffenheit zu schließen. Was wir im besten Fall mit unsrer heutigen Färbetechnik erreichen, ist eine Art von »Indikatorreaktion«, d. h. eine Prüfung auf sauer oder basisch. Aber der Farbenumschlag eines Indikators sagt uns nichts aus über die Art der Säure oder Base. — Und nun die Lagebeziehungen der beteiligten Substanzen, auf die SCHAXEL so großen Wert legt. Ich halte diese Lagebeziehungen ebensogut erklärbar durch meine a. a. O. (12) gegebene Auffassung. Vgl. hierzu auch neuerdings KRAHELSKA (13). — Dazu kommt noch ein weiteres Moment. Wir ahnen allmählich, welch große Rolle die Ionenwanderung im Zellenleben spielt. Wenn solche sich während des Wachstums des Eies vollziehen und damit Reaktionsänderungen und -verschiebungen in Kern und Plasma eintraten, so müssen diese für unsre Färbemethoden gerade an der Kernmembran besonders augenfällig werden, wodurch dann häufig eine »Chromidienbildung« vorgetäuscht wird. —

Weiterhin haben die Untersuchungen KÜHNS (13) gezeigt, daß bei der Furchung von *Polyphemus* im Takte mit den Furchungsmitosen chromatische Substanzen auftreten und verschwinden, die nach KÜHN sicherlich nicht aus dem Kern stammen. Gerade diese Beobachtungen weisen deutlich auf die komplexe Natur der Wechselbeziehungen zwischen Kern und Plasma hin und mahnen zur größten Vorsicht bei Beurteilung der Frage der Chromidienbildung.

Brachycoelium zeigte bis zu einem gewissen Grade ebenfalls das SCHAXELsche Chromatizitätsschema. Hier aber läßt sich nachweisen, daß der Wechsel von Chromasie und Achromasie sich zwischen Nucleolus und Chromosomen abspielt, unabhängig — wenigstens rein morphologisch — von den chromatischen Substanzen im Plasma.

Nach all dem halte ich den Beweis, daß in den von SCHAXEL untersuchten Objekten ein Austritt von Chromatin aus dem Kern ins Plasma erfolgt, für nicht erbracht und die Existenz des Prozesses in der von SCHAXEL angegebenen Weise auch nicht für wahrscheinlich[1]).

C. Das Reduktionsproblem.

1. Spirem, Leptonema und Pachynema.

In der Behandlung des Reduktionsproblems hat bekanntlich die Frage, ob zwischen letzte goniale Telophase und Leptonema ein kon-

---

[1]) Energische Verwahrung muß ich dagegen einlegen, daß SCHAXEL (12b) glaubt mir vorwerfen zu dürfen, ich habe (bezüglich der Verhältnisse bei *Pelagia*) in meiner *Ascaris*-Arbeit (12) »ein Institutsgespräch . . . leichtfertig für eine wissenschaftliche Mitteilung gehalten«. Der betreffende Passus in jener Untersuchung hat Herrn Dr.

tinuierliches Spirem eingeschaltet ist oder nicht, eine große Rolle gespielt. Die Anhänger der Parallelkonjugation leugnen seit den überaus klaren Bildern, die JANSSENS (05), v. WINIWARTER (00) und SCHREINER (06) gegeben haben, die Existenz eines kontinuierlichen Spirems ganz entschieden (vgl. GRÉGOIRE [10]). Ihnen schließt sich nach genauer Durchmusterung der SCHREINERschen und JANSSENSschen Präparate WILSON (12) an. Für die Existenz eines kontinuierlichen Knäuels bei Trematoden, die uns hier speziell interessieren, sind eingetreten SCHELLENBERG (11) für *Fasciola* und WASSERMANN (12) für *Zoogonus*, während die übrigen *Zoogonus*-Untersuchungen (GOLDSCHMIDT, SCHREINER und GRÉGOIRE) keine Angaben über diesen Punkt enthalten. Bei *Dicrocoelium* hat anscheinend weder GOLDSCHMIDT (Ovogenese) noch DINGLER (Spermatogenese) ein kontinuierliches Spirem beobachtet. Betreffs der weiter zurückliegenden Angaben verweise ich auf GRÉGOIRE (11). — Völlige Sicherheit über diesen Punkt war bei *Brachycoelium* nicht zu erlangen, obgleich ich Stadien der Fig. 3, die den Eindruck eines kontinuierlichen Fadens machen, öfters begegnete. Besonders wichtig erscheint mir in dieser Hinsicht Fig. 4, für die mir nach wiederholter genauer Beobachtung die Kontinuität des Fadens äußerst wahrscheinlich ist. Man sieht an einigen Stellen deutlich, wie der dünne Faden kontinuierlich in den dicken übergeht, ein Vorgang, dessen Existenz z. B. LÉRAT (05) auf das entschiedenste geleugnet hat. Hieran schließt sich das leptotäne Stadium mit ungefähr der Normalzahl und darauf das pachytäne mit der reduzierten an. Da nun, wie bereits oben betont, eine eigentliche Synapsis (synaptische Zusammenballung) ebensowenig zu beobachten war, wie die u. a. von SCHREINER und JANSSENS gegebenen Y-förmigen Bilder, so muß ich die Auffassung vertreten, daß, entweder ähnlich in der von MONTGOMERY (00, 04, 05) und SUTTON (02) beschriebenen Art und Weise homologe Chromosomen bereits in der letzten gonialen Telophase end to end (metasyndetisch) konjugieren (»Spermatogoniale Syndesis«, HÄCKER [07]), also bereits im kontinuierlichen Knäuel in richtiger Reihenfolge hintereinander liegen, oder aber diese richtige Hintereinanderreihung in ein — nicht beobachtetes — Stadium zwischen Spirem und Leptonema fällt. Es ist klar, daß dann die Normalzahl im Leptonema nur vorgetäuscht wird und zwar dadurch, daß ein häufig schon in der letzten gonialen Anaphase aufgetretener Längsspalt (vgl. hierüber besonders DÉHORNE [11]) im Spirem, besonders aber im leptotänen Bukett

---

BUCHNER, von dem die bezügliche Mitteilung stammte, in seiner druckfertigen Fassung vorgelegen und wurde auf ausdrückliche Ermächtigung seitens Herrn Dr. BUCHNERS veröffentlicht.

sehr deutlich wird, ja es zu einer weitgehenden Trennung der Hälften kommen kann. Durch allmähliche Rückbildung dieses Längsspaltes entsteht das pachytäne Bukett mit deutlich reduzierter Schleifenzahl und häufig — besonders in früheren Stadien — noch deutlicher Duplizität der Schleifen (Fig. 6, 7 u. 35). Daß es sich bei der reduzierten Zahl im Pachynema um Metasyndese handelt, scheint mir weniger aus der bei *Brachycoelium* keineswegs deutlichen »achromatischen Brücke« GOLDSCHMIDTS, POPOFFS und WASSILIEFFS, als vielmehr — außer den oben erwähnten Gründen — daraus hervorzugehen, daß ich häufig Bilder gefunden habe, in denen sichtlich eine Durchbrechung der Schleifen stattgefunden hat, so daß man mehr — meist nicht mehr polar orientierte — Schleifen findet als der Normalzahl entspricht (Fig. 6). Solche Bilder können natürlich nur durch Annahme einer Metasyndese erklärt werden. Sie nähern sich, wie man sieht, den von SCHELLENBERG (11) gegebenen, sind aber, wie die Folge zeigen wird, anders zu deuten, da sich mit Sicherheit feststellen läßt, daß in die Prophasen I stets die reduzierte Zahl eingeht.

2. Bukettstadium und Faltungstheorie.

Es ist merkwürdig, daß die Bedeutung der ausgesprochenen polaren Orientierung der Schleifen im Bukett wenig diskutiert worden ist. Zwar hat BUCHNER (10) gute Gründe für die Art und Weise, wie diese Orientierung erfolgt, beigebracht; aber das »warum« hat, wie gesagt, weniger Beachtung gefunden. BUCHNER hat es sehr wahrscheinlich gemacht, daß die Orientierung der Schleifen durch das Aktivwerden eines Centriols zu erklären ist, dessen orientierende Wirkung sich nicht nur auf die Chromatinschleifen, sondern auch auf Mitochondrien usw. erstrecken kann. Wenn nun auch bei *Brachycoelium* ein Körper, der nur als Centriol zu deuten ist, mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden kann (vgl. Fig. 5, 7 u. 35), so halte ich doch diesen Umstand für nicht sehr schwerwiegend, da wie mehrfach erwähnt Centriole ja auch sonst bei *Brachycoelium* nur äußerst selten nachzuweisen sind. Ich halte daher an der BUCHNERschen Auffassung fest. — Was aber ist der Zweck dieser Orientierung? Den Schlüssel zum Verständnis müssen wir, glaube ich, in der u. a. von MONTGOMERY (03, 04, 05), besonders aber von FARMER und MOORE (04, 05) propagierten »Faltungstheorie« (»Repliement« [GRÉGOIRE]) erblicken. Die Faltungstheorie hat eine große Zahl von Vertretern gefunden. Ich verweise diesbezüglich auf die treffliche Zusammenfassung GRÉGOIRES (11). Die betreffenden Autoren vertreten die Auffassung, daß die bivalenten Elemente, wie sie in den auf das Pachynema folgenden strepsitänen

(diplotänen) und diakinetischen Stadien in Gestalt von V, U-, 8- und zopfförmigen Figuren auftreten, die dann schließlich zu typischen »Gemini« (Grégoire) werden können, sich direkt von den Bukettschleifen ableiten lassen, indem die metasyndetisch verknüpften Schenkel einander stark genähert, ja überkreuzt werden, wobei die »Abbiegung« so stark werden kann, daß eine Lösung der endweisen Verknüpfung erfolgt und so die charakteristischen bivalenten Elemente der Prophasen I entstehen. Ich möchte für *Brachycoelium* mit Entschiedenheit für diese Auffassung eintreten, denn einmal sieht man auf späten pachytänen Bukettstadien, daß tatsächlich die Enden einer bivalenten Schleife einander so genähert und umeinander gewickelt werden können (auf der Fig. 7 nicht genügend deutlich sichtbar), daß einzelne Schleifen schon strepsinematischen Habitus zeigen (auf der Figur bei *a*), während die übrigen sich teils auf einem weiter zurückliegenden, teils auf einem noch weiter vorgeschrittenen Stadium befinden. So ist z. B. die mit *b* bezeichnete Schleife noch auf einem der Mehrzahl der der Fig. 35 entsprechenden Stadium, während die mit *c* bezeichneten schon die Gestalt der »Gemini« haben (die Zelle ist im oberen Teil etwas angeschnitten, so daß eine Schleife fehlt). — Ferner lassen sich die V-. U- und zopfförmigen, an einem Ende offenen Figuren, die u. a. in den Prophasen I auftreten und bei denen sich zeigen läßt, daß die erste Reifeteilung die Schenkel trennt, am ungezwungensten auf Grund der »Faltungstheorie« erklären. Schließlich gestattet die Faltungstheorie eine Vereinigung der sich so schroff gegenüberstehenden Auffassungen der »end to end« und Parallelkonjugation und damit komme ich zur eigentlichen Bedeutung des Bukettstadiums. Darnach hat die polare Orientierung des Buketts den Zweck, die ursprünglich hintereinander liegenden homologen Chromosomen in der Weise durch Umbiegung einander zu nähern, daß eine völlige oder teilweise parallele Aneinanderlagerung — deren theoretische Bedeutung ja oft genug erörtert wurde — ermöglicht wird. Es kann bei dieser Umbiegung, wie schon erwähnt, die ursprüngliche Verbindungsstelle gelöst oder erhalten bleiben. In den auf Fig. 8—12 dargestellten Stadien sind dann Austauschmöglichkeiten zwischen den Chromosomen zur Genüge gegeben, also dasselbe, wie durch sofortige Parallelkonjugation erreicht.

3. Meta- Parasyndese und Faltungstheorie.

Man kann dem entgegenhalten, daß, wenn es schließlich doch zu einer parallelen Konjugation kommt, nicht zu verstehen ist, warum eine solche nicht ohne weiteres durchgeführt wird, was in der Tat die Bilder

von SCHREINER und JANSSENS so wahrscheinlich machen, daß neuerdings selbst WILSON (12) nach genauer Durchsicht der Originalapparate sich den daraus ergebenden Folgerungen nicht entziehen kann. Dazu ist nun zunächst zu bemerken, daß die Annahme einer Parasyndese die polare Orientierung im Bukett unerklärt läßt. Ferner muß man nach den Untersuchungen von DÉHORNE (11*a*, 11b) es aufs neue als nicht von der Hand zu weisen erachten, daß die besonders ins Gewicht fallenden Y-förmigen Bilder der SCHREINERschen und JANSSENSschen Untersuchungen auf den bereits in der Meta- oder Anaphase der letzten Teilung aufgetretenen Längsspalt der Chromosomen zurückzuführen ist, eine Annahme, die ja besonders von GOLDSCHMIDT (08), MEVES (07, 08) und FICK (07, 08) vertreten wurde. Auf die DÉHORNEsche Auffassung der Verhältnisse möchte ich hier nicht weiter eingehen. GRÉGOIRE (12) hat bereits darauf hingewiesen, daß DÉHORNES Vorstellungen über das, was als »Normalzahl« zu bezeichnen ist, allein schon durch die Fälle mit ungerader Chromosomenzahl ad absurdum geführt werden. Daß sich bezüglich der Zahlenverhältnisse im Pachynema alle Autoren, die übereinstimmend hier die reduzierte anstatt die Normalzahl — wie DÉHORNE will — beobachten, im Irrtum befinden, halte ich für ausgeschlossen, ebenso, daß für so gut untersuchte Objekte wie *Zoogonus*, *Ophryotrocha*, die Annahme von abermals neuen Zahlenverhältnissen in den Prophasen I möglich wäre. Auch glaube ich im Gegensatz zu DÉHORNE an der Auffassung festhalten zu müssen, daß speziell das Bukettstadium ein Charakteristikum der Reifung der Geschlechtszellen bildet.

Die schwerwiegendsten Einwände aber, die man den Anhängern der Parallelkonjugation gegenüber erheben kann, sind einmal die Stäbchentetraden und ferner das Verhalten der Heterochromosomen in der Spermatogenese, wie auch die synaptischen Stadien der Geschlechtszellen aus parthenogenetisch erzeugten Organismen (KÜHN [08]), SCHLEIP [09], FRIES [10]). Das Vorkommen echter Stäbchentetraden hat im Gegensatze zu LÉRAT (05), MATSCHEK (10) in Übereinstimmung mit den früheren Angaben RÜCKERTS und HÄCKERS bei Copepoden bestätigen können. Eine Erklärung der Stäbchentetraden ist für die Anhänger der Parallelkonjugation unmöglich. Denn dem gelegentlichen Vorkommen eines oder mehrerer Querspalte an univalenten Chromosomen kann man die Bedeutung, die GRÉGOIRE (10) dem gibt, nicht zuerkennen. Der zweite gewichtige Einwand, auf den BUCHNER (09) mit Recht hinweist, der aber von der GRÉGOIREschen Schule nicht berücksichtigt wird, betrifft die Tatsache, daß in sicher univalenten Heterochromosomen einiger Insektenspermatogenesen auf dem Bukettstadium ein deutlicher Längsspalt auf-

tritt. Besonders instruktiv zeigen das die Bilder von Davis (08) für Acridier und Locustiden, die von Montgomery (05) für *Syrbula* und *Lycosa* und die Wilsons (12) für *Lygäus*. Daß wir es hier mit einem echten Längsspalt zu tun haben, kann keinem Zweifel unterliegen.

Verlieren nun schon für den auf dem Boden der Faltungstheorie Stehenden die Gegensätze zwischen Meta- und Parasyndese ihre Bedeutung, so zeigen auch gerade die Heterochromosomen der Insekten, daß es offenbar Übergänge zwischen den beiden Konjugationsmodi gibt. Montgomery konnte in der Spermatogenese von *Syrbula* feststellen, daß während die Autosomen sich bereits im Pachynema befinden, die — hier paarigen — Heterochromosomen sich zuerst endweise zusammenlegen, so daß eine V-Form entsteht, die längere Zeit erhalten bleibt, bis endlich die parallele Aneinanderlagerung völlig durchgeführt wird. Also im Prinzip nichts andres als ein besonders klarer Fall einer »Faltung«. Genau die gleichen Bilder, wenngleich eine andere Deutung, gibt Federley (13) für die Autosomen bei der Spermatogenese von *Pygaera*. — Auch Wilson (12) kommt zu der Überzeugung, daß ein scharfer Gegensatz zwischen Meta- und Parasyndese nicht besteht, da gerade die Bilder Janssens und Schreiners zeigen, daß die Parasyndese stets an den Chromosomenenden beginnt und dann der Länge nach weiter schreitet, wodurch die Y-förmigen Bilder entstehen.

4. Die Frage echter Reduktionsteilungen und die des »Primärtypus«.

Trotz Meinungsverschiedenheiten über die Art und Weise der Pseudoreduktion und dementsprechend darüber, welche der beiden Reifeteilungen die endgültige Reduktion bewirkt, war man sich aber bisher darüber klar, daß eine echte Reduktionsteilung, also eine regelrechte Trennung der Konjuganten, in einer der beiden Reifeteilungen wirklich erfolgt. Neuerdings sind indessen Stimmen laut geworden (Bonnevie [08a u. b], Häcker [10, 12], Matschek [10], Vejdovsky [07, 11/12], v. Winiwarter und Sainmont [09]), die das Vorhandensein echter Reduktionsteilungen bestreiten. Besonders die Untersuchung Matscheks (10) an Copepoden ist hier von Bedeutung, da er glaubt, festgestellt zu haben, daß die metasyndetisch verknüpften Elemente in den beiden Reifeteilungen eine zweimalige Äquationsteilung erfahren. Wilson (12) hält zwar für die Geschlechtschromosomen der von ihm untersuchten Objekte eine echte Reduktionsteilung für erwiesen, für die Autosomen — besonders auch von *Batrachoceps* und *Tomopteris* — dagegen scheint ihm der Beweis einer echten Reduktionsteilung in keiner Weise erbracht. Ja v. Wini-

WARTER und SAINMONT (09) kommen für die Fälle der Parasyndese zu der Auffassung, daß eine so innige Verschmelzung und Durchdringung der Paarlinge statthat, daß in allen Teilen gleichartige »Mixochromosomen« entstehen, die in den Reifeteilungen zweimal äquationell geteilt werden. Ähnliche Vorstellungen äußern VEJDOVSKY (07, 11/12) und BONNEVIE (08a, 08b). Gegenüber diesen extremen Auffassungen muß doch auf die ROSENBERGschen Befunde an *Drosera*-Bastarden (04, 09), vor allem aber wieder auf das Verhalten der Heterochromosomen hingewiesen werden, die das Vorhandensein einer Reduktionsteilung zur Gewißheit machen. Einen definitiven Entscheid könnte man nach HARTMANNS Vorschlag (11) experimentell gewinnen durch Parthenogenese von Bastardeiern. Voraussetzung dafür ist freilich, daß solche parthenogenetisch sich entwickelnde Bastardeier — HARTMANN schlägt *Bombyx mori* vor — auch eine echte Reduktionsteilung erleiden. — Was die Verhältnisse bei *Brachycoelium* betrifft, so halte ich es für sicher, daß die erste Reifeteilung eine echte Reduktionsteilung ist. Eine so sinnfältige Reduktion, wie GOLDSCHMIDT sie für *Zoogonus* beschrieben hat, liegt freilich nicht vor, da von einem »Primärtypus« bei *Brachycoelium* keine Rede sein kann. Ob die bei Protozoen (PRANDTL, ENRIQUES) bekannt gewordenen Fälle von »Primärtypus« einer eingehenden Kritik werden standhalten können, muß nach den vorliegenden Erfahrungen wohl als fraglich bezeichnet werden. Erwähnt mag übrigens noch werden, daß MEVES (02) bei der Spermatogenese der oligopyrenen Spermien von *Paludina* auch eine Art von Primärtypus beobachtet hat. — Ganz neuerdings hat BROWNE (13) bei der Spermatogenese von *Notonecta* beobachtet, daß die X und Y-Chromosomen, die normalerweise in der Telophase der I. Reifeteilung konjugieren, dies manchmal unterlassen, sodaß es für diese beiden Chromosomen zu einem »Primärtypus« kommen kann. — Noch merkwürdiger sind die Befunde FEDERLEYS (13) bei der apyrenen Spermatogenese von *Pygaera*. Im Gegensatz zur eupyrenen Spermatogenese erscheint hier stets die Normalzahl der Chromosomen in der Prophase I, worauf eine unregelmäßige Verteilung auf die beiden Pole erfolgt. Das stimmt mit den Befunden von MEVES an *Paludina* überein. Auch in der botanischen Literatur sind eine Reihe ähnlicher Fälle beschrieben worden, auf die kurz hingewiesen sei. So beobachteten GATES und DAVIS in den Reifeteilungen von *Oenothera gigas* und *biennis* das Auftreten der diploiden Zahl und in einigen *Oenothera*-Bastarden fand GATES Verhältnisse, die denen der von FEDERLEY untersuchten *Pygaera*-Bastarde durchaus entsprechen. — Es scheint demnach, als ob unter bestimmten Verhältnissen Anomalien in der Chromosomensyndese auf-

treten, deren Ausdruck ein Verhalten gemäß dem »Primärtypus« ist und die ihren Höhepunkt erreichen in den Reifeteilungen der offenbar befruchtungsunfähigen apyrenen Spermien von *Paludina* und *Pygaera*. Vielleicht läßt sich von diesem Gesichtspunkte aus auch der Fall von *Zoogonus* (nach Goldschmidt) als gelegentliche pathologische Ausnahmeerscheinung erklären.

5. Reifeteilungen und Faltungstheorie.

Wenn nun das Vorhandensein echter Reduktionsteilungen nicht gut wird bezweifelt werden können, so bleibt doch die Tatsache von zwei Reifeteilungen zu erklären. Versuche hierzu sind unter andern von Boveri (04, 10), Janssens (09), Goldschmidt (11) und Grégoire (10) gemacht morden. Grégoire nimmt im Anschluß an Boveri und Farmer und Moore an, daß die Geschlechtszellen durch eine Reihe von Teilungen erst die Qualitäten zur Reife erhalten und daß die erste reduzierende Reifeteilung gewissermaßen nur zwischen vorletzte und letzte goniale Teilung »eingeschoben« sei. Nun wissen wir aber, durch die Untersuchungen Gurwitschs (11) am Salamanderhoden, daß die Voraussetzung für diese Vorstellung deswegen kaum zutreffend sein kann, weil, wie sich durch Zählung feststellen läßt, die Zahl der von den Salamanderspermatogonien durchgeführten Teilungen zwischen 2 und 7 liegen kann, also sicherlich keine bestimmte Zahl von Teilungen zur Erlangung der Reifequalitäten durchgeführt werden muß. — Janssens (09) vertritt in seiner Theorie der »Chiasmatypie«, die übrigens einen Vorläufer in Häckers (04) Theorie der »Symmixis« hat, die Auffassung, daß während der Meta- und Anaphase der ersten Reifeteilung durch eine Art von »Einhenkelung« der bereits längsgespaltenen »Gemini« eine Auswechselung von Teilen erfolgt, dergestalt, daß ein und dieselbe Teilung für die eine Hälfte eines Chromosoms reduktionell, für die andre äquationell erfolgt. Wegen Einzelheiten sei auf das Original verwiesen. Indessen hat Grégoire (10) darauf hingewiesen, daß die Janssenssche Auffassung schwer durchführbar ist. — Auch Goldschmidt (11) hat über die Ursache der zwei Reifeteilungen Vorstellungen entwickelt, die in manchen denen Janssens ähneln und bezüglich derer auf das Original verwiesen sei.

Die Schwierigkeiten, die der Erklärung von zwei Reifeteilungen im Wege stehen, lassen sich aber überwinden, sobald man den extremen Standpunkt fallen läßt, daß eine der beiden Reifeteilungen stets für sämtliche Chromosomen reduktionell, die andre für sämtliche Chromosomen stets äquationell verläuft. Es gibt in der Literatur über das Verhalten der Heterochromosomen in den Reifeteilungen Angaben, die zeigen, daß

Autosomen und Heterochromosomen sich bezüglich der Reduktion in den Reifeteilungen verschieden verhalten. Ich greife einen besonders drastischen Fall heraus, den von *Lygaeus*, der neuerdings von Wilson (12) abermals untersucht wurde. Wilson stellte fest, daß die beiden unpaaren Heterochromosomen (X- und Y-Elemente) in der ersten Reifeteilung äquationell geteilt werden, in der Anaphase konjugieren, um in der zweiten Reifeteilung reduktionell voneinander getrennt zu werden. Da es Wilson nach Untersuchung der synaptischen Stadien für äußerst wahrscheinlich hält, daß die Autosomen parallel konjugieren und die Reifeteilungen für diese nach dem heterohomeotypischen Schema verlaufen, so stünden wir vor der wichtigen Tatsache, daß die erste Reifeteilung für die Autosomen reduktionell, für die Heterochromosomen äquationell, die zweite dagegen umgekehrt verläuft. Dieser Fall steht durchaus nicht vereinzelt da, vielmehr finden sich prinzipiell die gleichen Verhältnisse anscheinend durchweg in der Spermatogenese der Wanzen (vgl. u. a. Montgomery [10], sowie Gross [12]) und bei *Angiostoma* hat Schleip (11) das gleiche Verhalten beobachtet. Das würde mit andern Worten besagen, daß die Durchführung von zwei Reifeteilungen gewährleisten soll, daß unter allen Umständen reduziert wird, was natürlich, wie wir sahen, durch nur eine solche Teilung mit Sicherheit nicht erreicht werden kann. Besonders augenfällig ist eine solche Auffassung für die Fälle, wo in den Prophasen I entweder nur Tetraden (Copepoden, *Ascaris*) oder neben »Gemini« echte Tetraden auftreten, wie das besonders bei Insekten (*Brachystola*, *Anasa* u. a.) fast die Regel ist. Offenbar hängt in diesen Fällen davon, daß die Tetraden ebenso in die Äquatorialplatte zu liegen kommen wie die »Gemini«, ab, ob hier sämtliche bivalente Elemente oder nur ein Teil von ihnen durch die erste Reifeteilung reduziert wird. Die nächste Reifeteilung aber muß dann diejenigen Elemente, die in der ersten äquationell getrennt wurden, reduktionell scheiden und um die reduzierte Zahl zu erhalten, müssen selbstverständlich die bereits reduzierten Elemente noch einmal äquationell geteilt werden. Eine weitere Stütze erfährt diese Auffassung durch die Untersuchung Federleys (13) über die gemischt äquationell-reduktionellen Reifeteilungen in der Spermatogenese der *Pygaera*-Bastarde. — Wie aber ist es möglich, daß in den Prophasen I echte Tetraden und »Gemini« eingehen? Ich glaube, die Faltungstheorie vermag darauf eine Antwort zu geben. Je nachdem die Umbiegung auf dem Bukettstadium eine vollständige ist oder nicht, können, wie wir bereits sahen, beiderlei Formen entstehen. In dieser Richtung scheint eine Schwierigkeit also nicht vorzuliegen. — Für denjenigen, der eine primäre Metasyndese und Längsspaltung annimmt,

bietet demnach die Tatsache von zwei Reifeteilungen keinerlei Schwierigkeiten. Sie ist eine natürliche Folge eben jenes Längsspaltes. Die Frage lautete daher nicht: warum zwei Reifeteilungen, sondern: warum jener frühe Längsspalt. Hierauf ist zu antworten, daß die frühe Längsspaltung der Chromosomen, die, wie Déhorne (11) zu beweisen sucht (vgl. hierzu auch Borgert [11]), bereits in der Metaphase der vorhergehenden Teilung auftritt, ein allgemeines Charakteristikum der aus einer regulären Mitose in den Ruhekern eingehenden und aus ihm hervorgehenden Chromosomen ist. Solche »sekundär« längsgespaltene Chromosomen tragen bereits die nicht mehr reversible Notwendigkeit einer weiteren Teilung in sich, was eben in einer der beiden Reifeteilungen manifest wird. So näherten wir also auf diesem Umwege wieder der Boveri-Grégoireschen Auffassung, nur mit dem Unterschied zu Grégoire, daß obige Auffassung zwar für die Annahme einer Meta- nicht aber für die einer Parasyndese berechtigt erscheint.

6. Weitere Folgerungen aus der Faltungstheorie.

Wenn die Faltungstheorie zu Recht besteht, so müssen aus den Formen der Prophasenelemente gewisse Rückschlüsse auf das Bukettstadium gestattet sein. So muß man z. B. annehmen, daß überall da, wo echte Stäbchentetraden in den Prophasen I erscheinen, ein Bukettstadium fehlt, wenn man nicht annehmen will, daß die Umbiegung später auf irgendeine Weise rückgängig gemacht worden ist. Den Entscheid hierüber müßten die Copepoden bringen. Typische Bukettstadien sind nach den Abbildungen Matscheks zu schließen, anscheinend nur bei *Diaptomus castor* vorhanden.

Da aber über die Art der Reifungsvorgänge bei Copepoden sich die Angaben Rückerts, Häckers, Lérats und Matscheks nicht miteinander vereinen lassen, bedarf dieser Punkt wohl neuer Untersuchungen. Der Fall von *Ascaris megalocephala* gehört ebenfalls hierher. Indessen steht eine eingehende Untersuchung der synaptischen Stadien hier noch aus, und da die Angaben über die Entstehung der Tetraden (Tretjakoff [05] ♂), (Griggs [06] ♀) nicht im Einklang miteinander stehen, ist auch eine Verwertung dieses Falles nicht möglich. Bei *Ascaris mystax*, wo in den Prophasen I Stäbchentetraden auftreten, scheint ein typisches Bukett zu fehlen, wie aus den Figuren von Marcus (06) hervorgeht. — Ein Bukettstadium müßte ferner überall da fehlen, wo im Kern die reduzierte Chromosomenzahl vorhanden ist, also z. B. in der Spermatogenese der Bienen und Ameisen. Daß dies nach den Untersuchungen von Meves (07) und Lams (08) tatsächlich der Fall ist, ist bekannt. Das gleiche müßte

sich für die Spermatogenese der durch Merogonie oder künstliche Parthenogenese erzeugten Seeigel nachweisen lassen. — Aber auch die natürliche Parthenogenesis muß hier Aufschluß geben. Auf alle die verschiedenen komplizierten Fälle einzugehen, würde zu weit führen und auch deswegen nicht lohnen, weil eine vergleichende Untersuchung zwischen parthenogenetischen und geschlechtlichen Generationen außer bei Bienen und Ameisen an ein und derselben Art bisher nicht durchgeführt worden ist. Zwar hat Schleip (09) einige Ostracoden auf diese Verhältnisse hin untersucht, da aber von den vier untersuchten Arten zwei (*Cypris ovum* und *Notodromas monada*) sich nur geschlechtlich, die beiden andern (*Cypris fuscata* und *reptans*) dagegen nur parthenogenetisch fortpflanzen, scheidet dieser Fall aus der Betrachtung aus. — Aus den Abbildungen von Kühn (08) ist zu schließen, daß ein Bukettstadium bei den parthenogenetischen Eiern der Cladoceren fehlt. Das würde umgekehrt darauf schließen lassen, daß die parthenogenetisch entstandenen Tiere die reduzierte Chromosomenzahl besitzen, was durch einen Vergleich mit der Ovogenese der Stammutter ermittelt werden könnte. Dementsprechend müßte die Spermatogenese nach dem Typus der Bienen und Ameisen verlaufen und die Tendenz zur Männchenbildung wäre eben auf das Vorhandensein der reduzierten Chromosomenzahl (Bienen und Ameisen!, *Neuroterus*? [Doncaster, 10, 11]) zurückzuführen. Fries (10) findet bei *Branchipus* — wo Pseudoreduktion, zwei Reifeteilungen und echte Reduktion stattfindet — wie zu erwarten auch ein Bukettstadium, in den parthenogenetischen Generationen von *Artemia* dagegen — wo weder Pseudoreduktion noch echte Reduktion und nur eine Reifeteilung erfolgt — kein solches. Letzteres beobachtet auch v. Baehr (09) für die Ovogenese viviparer Aphiden, während in der Spermatogenese von *Aphis saliceti* — wo Pseudoreduktion, zwei Reifeteilungen und echte Reduktion statthaben — auch ein Bukettstadium auftritt. Dagegen lassen sich die Schleipschen Befunde an *Rhodites rosae* nicht in die gleiche Linie bringen. Damit möchte ich diese Erörterungen beschließen. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob die hier vorgetragene Auffassung den Verhältnissen vollauf gerecht zu werden vermag.

Literaturverzeichnis.

v. Baehr, W. B. Die Ovogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von Aphis saliceti usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909.

Bonnevie, K. Chromosomenstudien I. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908a.

—— Chromosomenstudien II, usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. II. 1908b.

Borgert, A. Kern- und Zellteilung bei marinen Ceratiumarten. Arch. f. Protistenk. Bd. XX. 1910.

Boveri, Th. Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena 1904.

—— Die Potenzen der Ascaris-Blastomeren. Festschr. f. R. Hertwig. Bd. III. Jena 1910.

Braun, H. Über die specifischen Chromosomenzahlen der einheitlichen Arten der Gattung Cyclops. Arch f. Zellforsch. Bd. III. 1909.

Bresslau, E. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Turbellarien usw. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVI. 1904.

Browne, Ethel Nicholson, A study of the male germ cells in Notonecta. Journal of Exper. Zool. Vol. XIV. 1913.

Buchner, P. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909.

—— Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Arch. f. Zellforsch. Bd. V. 1910.

—— Die Reifung des Seesterneies bei experimenteller Parthenogenese. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.

Conklin, E. G. Karyokinesis and cytokinesis in the maturation, fertilisation and cleavage of Crepidula and other Gasteropoda. Journ. Acad. Philad. Vol. XII. 1902.

Davis, B. N. Studies on the plant cell. Amer. Nat. Vol. XXXIX. 1905.

Davis, H. Sp. Spermatogenesis in Acrididae and Locustidae. Bull. of the Mus. of Comp. Zool. Harward Coll. Vol. LIII. Nr. 2. 1908.

Déhorne, A. Recherches sur la division de la cellule I etc. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911a.

—— Recherches sur la division de la cellule II etc. Arch. d. Zool. expér. T. IX. 1911b.

Dingler, M. Über die Spermatogenese des Dicrocoelium lanceolatum. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910.

Doncaster, L. Gametogenesis of the Gallfly Neuroterus lenticularis. Proc. Roy. Soc. B. Vol. LXXXII. 1910.

—— Gametogenesis of the Gallfly Neuroterus lenticularis. Part. II. Proc. Roy. Soc. B. Vol. LXXXIII. 1911.

Farmer, J. B. and Moore, I. E. S. New investigations into the reduction phenomena of animals and plants. Proc. Roy. Soc. London. Vol. LXXII. 1903.

—— On the maiotic phase (reduction division) in animals and plants. Quart. Journ. micros. Science Vol. XLVIII. 1904.

Federley, H., Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese der Schmetterlinge Pygaera anachoreta, curtula und pigra sowie einiger ihrer Bastarde usw. Zeitschr. f. indukt. Abst. u. Vererb. Bd. IX. 1913.

FICK, R. Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastardregeln. MERKEL u. BONNETS Ergebn. Bd. XVI. 1907.

—— Zur Konjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.

FRIES, W. Die Entwicklung der Chromosomen im Ei von Branchipus Grub. usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910.

GOLDSCHMIDT, R. Untersuchungen über die Eireifung, Befruchtung und Zellteilung bei Polystomum integerrimum Rud. Zeitschr. für wiss. Zool. Bd. LXXI. 1902.

—— Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXI. 1905a.

—— Eireifung und Befruchtung und Embryonalentwicklung des Zoogonus mirus Lss. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXI. 1905b.

—— Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des Dicrocoelium lanceolatum. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908a.

—— Ist eine parallele Chromosomenkonjugation bewiesen? Arch. für Zellforsch. Bd. I. 1908b.

—— Die Chromatinreifung der Geschlechtszellen des Zoogonus mirus und der Primär-Typus der Reduktion. Arch. f. Zellforsch. Bd. II. 1909a.

—— Eischale, Schalendrüse und Dotterzellen der Trematoden. Zool. Anz. Bd. XXXIV. 1909b.

—— Das Skelett der Muskelzelle von Ascaris nebst Bemerkungen usw. Arch. für Zellforsch. Bd. IV. 1910.

—— Einführung in die Vererbungswissenschaft. Leipzig 1911.

GRÉGOIRE, V. Les phénomènes de l'étape synaptique représentent-ils une caryocinèse avortée? La Cellule. T. XXV. 1908.

—— La réduction dans le zoogonus mirus Lss. et le »Primär-Typus«. La Cellule. T. XXV. 1909.

—— Les cinèses de maturation dans les deux règnes II. La Cellule. T. XXVI. 1910.

—— Les phénomènes de la métaphase et de l'anaphase dans la caryocynèse somatique à propos d'une interprétation nouvelle. Ann. de la Soc. Scient de Bruxelles. T. XXXVI. 1912.

GRIGGS. A reduction division in Ascaris. Ohio Naturalist 1906.

GROSS, J. Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung bei Insekten. Zool. Jahrb. Anat. Bd. XXXII. 1912.

GÜNTHER, K. Über den Nucleolus im reifenden Echinodermenei u. seine Bedeutung. Zool. Jahrb. Anat. Bd. XIX. 1904.

GURWITSCH, A. Über das Wesen und das Vorkommen der Determination der Zellteilung. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXXII. 1911.

HÄCKER, V. Über das Schicksal der elterlichen und großelterlichen Kernanteile usw. Jena. Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XXXVII. 1902.

—— Die Chromosomen als angenommene Träger der Vererbung. Erg. und Fortschr. d. Zool. Bd. I. 1907

—— Ergebnisse und Ausblicke der Keimzellenforschung. Zeitschr. f. indukt. Abst. und Vererb. Bd. III. 1910.

—— Allgemeine Vererbungslehre. 2. Aufl. Braunschweig 1912.

HALKIN, H. Recherches sur la maturation, la fécondation et le développement du Polystomum integerrimum. Arch. d. Biol. T. XVIII. 1901.

Hartmann, N. Studien am tierischen Ei. I. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XV. 1902.
—— Vererbungsstudium. Zool. Jahrb. Suppl. 15. Festschr. f. Spengel. Bd. III. 1912.
Hertwig, R. Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung bei Actinosphärium eichhorni. Abh. bayer. Akad. d. Wissen. Bd. XIX. 1898.
—— Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und Teilung der Zellen. Biol. Centralbl. Bd. XXIII. 1903.
—— Über den Chromidialapparat und den Dualismus d. Kernsubstanzen. Sitz.-Ber. d. Ges. Morph. Phys. München. 1907.
—— Über neue Probleme der Zellenlehre. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.
v. Janicki, A. Beziehungen zwischen Chromatin und Nucleolen, während der Furchung des Eies von Gyrodactylus elegans v. Nordm. Zool. Anz. Bd. XXVI. 1903.
Janssens, F. A. L'évolution des auxocytes mâles du Batrachoseps attenuatus. La Cellule. T. XXI. 1905.
Janssens, F. A. et Willems, J. Spermatogénèse dans les Batraciens. IV. La spermatogénèse dans l'Alytes obstetricans. La Cellule. T. XXV. 1908.
—— La théorie de la Chiasmatypie. Nouvelle interprétation des cinèses de maturation. La Cellule. T. XXV. 1909.
Jordan, H. E. On the reaction between nucleolus and chromosomes in the maturing oocyte of Asterias Forbesii. Anat. Anz. Bd. XXXI. 1907.
—— The relation of the nucleolus to the chromosomes in the primary oocyte of Asterias Forbesii. Public. Carneg. Inst. Vol. CII. 1908.
—— The germinal spot in Echinoderm eggs. Public. Carneg. Inst. Vol. CII. 1910.
—— A cytological study of the egg of Cumingia with special reference to the history of the chromosomes and the centrosome. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910.
Jörgensen, M. Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von Proteus anguineus. Festschr. f. R. Hertwig. Bd. I. 1910.
—— † Zellenstudien III. Arch. f. Zellf. Bd. X. 1913.
Kathariner, L. Über die Entwicklung von Gyrodactylus elegans v. Nordm. Zool. Jahrb. Suppl. Bd. VII. 1904.
Krahelska, M. Drüsenstudien usw. Arch. f. Zellf. Bd. IX. 1913.
v. Kemnitz, G. Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII. 1912.
Korschelt, E. Über Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei Ophryotrocha puerilis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LX. 1895.
Kühn, A. Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Cladoceren usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.
—— Die Sonderung der Keimesbezirke in der Entwicklung der Sommereier von Polyphemus pediculus de Geer. Zool. Jahrb., Abt. Anat. u. Ont. Bd. XXXV. 1913.
Lams, H. Les divisions des spermatocytes chez la Fourmi. Arch. für Zellforsch. Bd. I. 1908.
—— Recherches sur l'œuf d'Arion empiricorum. Mém. Acad. Roy. Belg. 41. 2 sér. T. II. 1910.
Lérat, P. Les phénomènes des maturations dans l'ovogénèse et la spermatogénèse du Cyclops strenuus. La Cellule. T. XXII. 1905.

Lillie, F. R. Observations and experiments concerning the elementary phenomena of embryonic development in Chaetopterus. Journ. exp. Zool. Vol. III. 1906.

Lubosch, W. Über die Eireifung der Metazoen usw. Erg. d. Anat. und Entw. Bd. XI. (1901) 1902.

Markus, H. Ei und Samenreife bei Ascaris canis (Werner) (Ascaris mystax). Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXI. 1906.

Matschek, H. Über Eireifung und Eiablage bei Copepoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. V. 1910.

McClung, The chromosome complex of Orthopteran spermatocytes. Biol. Bull. Vol. IX. 1905.

Meves, Fr. Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung an Paludina und Pygära. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXI. 1902.

—— Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907.

—— Es gibt keine parallele Konjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.

Montgomery, Th. H. jr. The spermatogenesis of Peripatus Balfouri up to the formation of the spermatid. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XIV. 1900.

—— The heterotypic maturation mitosis in Amphibia and its general significance. Biol. Bull. Vol. IV. 1903.

—— Some observations and considerations upon the Maturation phenomena of the germ-cells. Biol. Bull. Vol. VI. 1904.

—— The spermatogenesis of Syrbula and Lycose etc. Proc. of the Acad. of Sciences, Philad. Vol. LVII. 1905.

—— On the dimegalous sperm and chromosomal variation of Euchistus with reference to chromosomal continuation. Arch. f. Zellforsch. Bd. V. 1910.

Paulmier, F. C. The spermatogenesis of Anasa tristis. Journ. Morphol. Vol. XV. Suppl. 1899.

Popoff, M. Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXX. 1907 a

—— Depression der Protozoonzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen. Arch. f. Protistenk., Festschr. f. Hertwig. 1907 b.

—— Experimentelle Zellenstudien. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.

Prandl, Die Konjugation von Didinium nasutum Arch. für Protistenk. Bd. VII. 1906.

Retzius, G. Über den Bau des Eies der Echinodermen im unbefruchteten und befruchteten Zustand. Biol. Untersuchungen. Neue Folge. Bd. XV. Nr. 1. 1910.

Rosenberg, O. Über die Tetradenteilungen eines Droserabastardes. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. Bd. XXII. 1904.

—— Cytologische und morphologische Studien an Drosera longifolia × rotundifolia. Kungl. Svenska Vetens-Kaps. akad. Handl. Bd. XLIII. 15. 1909.

Schaxel, J. Die Eibildung der Meduse Pelagia notiluca usw. Festschr. R. Hertwig, Jena. Bd. I. 1910.

—— Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung und ersten Organbildung der Echinodermen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVI. 1911a.

—— Das Verhalten des Chromatins bei der Eibildung einiger Hydrozoen. Zool. Jahrb., Abt. Anat. und Ont. Bd. XXXI. 1911 b.

Schaxel, J. Weitere Untersuchungen über die Eibildung der Medusen Pelagia. Jenaische Zeitschrift. Bd. XLVIII. 1912.

Schellenberg, A. Ovogenese, Eireifung und Befruchtung von Fasciola hepatica L. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.

Schleip, W. Vergl. Untersuchung der Eireifung bei parthenogenetisch und geschlechtlich sich fortpflanzenden Ostracoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. II. 1909a.

—— Die Reifung des Eies von Rhodites rosae L. und einige allgemeine Bemerkungen usw. Zool. Anz. Bd. XXXV. 1909b.

—— Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII. 1911.

Schreiner, A. und K. E. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. I. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von Tomopteris onisciformis. Arch. d. Biol. T. XXII. 1906.

—— Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. V. Die Reifung der Geschlechtszellen von Zoogonus mirus Lss. Vidnskabs-Selskabts Skrifter I. Math-Naturv. Klasse Nr. 8. 1908.

Schubmann, W. Über die Eibildung und Embryonalentwicklung von Fasciola hepatica. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXI. 1905.

Strassburger, E. Über Reduktionsteilung. Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Berlin. 1904.

Sutton, V. S. On the morphology of the chromosome group in Brachystola magna. Biol. Bull. Vol. IV. 1902.

Tretjakoff. Die Spermatogenese bei Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXV. 1904.

Vejdowsky, F. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Kgl. Böhm. Ges. d. Wiss. Prag. 1907.

—— Zum Problem der Vererbungsträger. Kgl. Böhm. Ges. d. Wiss. Prag 1911/1912.

Wassermann, F. Über die Eireifung bei Zoogonus mirus Lss. Sitzber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München 1911.

—— Zur Eireifung von Zoogonus mirus, ein Beitrag zur Synapsisfrage. Verhandl. d. Anat. Ges 26. Vers. in München 1912.

Wasilieff, A. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907.

Wheeler, W. N. The maturation, fecundation and early cleavage in Myzostoma. Arch. d. Biol. T. XV. 1897.

Wilson, E. B. Experimental studies in Cytology I. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XII. 1901a.

—— Experimental studies in Cytology II. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIII. 1901b.

—— Studies on Chromosomes III. The sexual Differences of the Chromosomes etc. Journ. of exper. Zool. Vol. III. 1906.

—— The Chromosomes of Metapodius, a contribution to the hypothesis of the genetic continuity of chromosomes. Journ. of Exp. Zool. Vol. VI. 1909.

—— Studies on chromosomes XII. Observations of the maturation phenomena in certain Hemiptera and other forms with considerations on synapsis and reduction. Journ. of Exp. Zool. Vol. XIII. 1912.

v. Winiwarter, H. Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères (Lapin et Homme). Arch. f. Biol. Bd. XXVII. 1900.

v. Winiwarter et Sainmont. Nouvelles Recherches sur l'organogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères (chat). Chap. IV. Arch. de Biol. T. XXIV. 1909.

Erklärung der Abbildungen.

Sämtliche Figuren sind mit Zeiss Hom.-Imm. 2 mm und Comp.-Oc. 12 mit Zeichenapparat auf Objekttischhöhe gezeichnet. Fig. 12 ist nach einem mit Schneiders Essigcarmin gefärbten Totalpräparat, alle übrigen nach 7,5—10 μ dicken, mit Eisenhämatoxylin gefärbten Schnittpräparaten angefertigt. — Bezeichnungen: N = Nucleolus; Sp = Spermatozoon.

Tafel XXXIX.

Ovogenese, Befruchtung, Reifeteilungen und Furchung.

Fig. 1. Ruhende Ovogonie, zwei Nucleolen.

Fig. 2. Ovonogienmitose, 20 Chromosomen.

Fig. 3. Spirem, ein Nucleolus.

Fig. 4. Desgleichen dicke und dünne Teile des Fadens gehen ineinander über, ein Nucleolus.

Fig. 5. Leptotänes Bukett, ein Nucleolus.

Fig. 6. Pachytänes Bukett, ein Nucleolus.

Fig. 7. Vorgeschrittenes pachytänes Bukett. Bei *a* die Enden einer bivalenten Schleife umeinandergewickelt, bei *b* der Längsspalt noch sichtbar, bei *c* Umbiegung und Bildung der »Gemini« vollendet. (Nucleolus nicht getroffen.)

Fig. 8. Strepsitänes (diplotänes) Stadium, ein Nucleolus.

Fig. 9. Desgleichen vorgeschrittenes Stadium, ein Nucleolus.

Fig. 10. Unreife Ovocyte, ein Nucleolus.

Fig. 11. Desgleichen kurz nach der Befruchtung, ein Nucleolus. Bei *x* ein bivalentes Prophasenelement sichtbar.

Fig. 12. Weitere Herausbildung der bivalenten Elemente der Prophase I. Das mit *x* bezeichnete Element deutlich, Verblassen des Nucleolus.

Fig. 13. Desgleichen weiteres Verblassen und Kleinerwerden des Nucleolus.

Fig. 14. Desgleichen Nucleolus verschwunden.

Fig. 15. I. Reifeteilung, Prophase, reduzierte Chromosomenzahl (10).

Fig. 16. Desgleichen vorgeschrittenes Stadium.

Fig. 17. Desgleichen. Metaphase.

Fig. 18. Desgleichen. Späte Anaphase von der Seite, zehn Elemente jederseits.

Fig. 19. Desgleichen von oben, zehn Elemente jederseits.

Fig. 20. Beginn der zweiten Reifeteilung, Spermakopf in Chromosomen aufgelöst.

Fig. 21. Zweite Reifeteilung, Anaphase, Spermakopf in Chromosomen aufgelöst.

Fig. 22. Desgleichen Telophase (Spermakopf nicht mitgetroffen).

Fig. 23. Karyomeritenbildung.

Fig. 24. Verschmelzung der Karyomeriten.

Fig. 25. Desgleichen vorgeschrittenes Stadium.

Fig. 26. Bildung der Vorkerne. Nucleolen in Bildung begriffen.

Fig. 27. Vollendete Vorkernbildung, je ein Nucleolus.

Fig. 28. Ausnahmsweise ein Synkaryon gebildet, zwei Nucleolen.

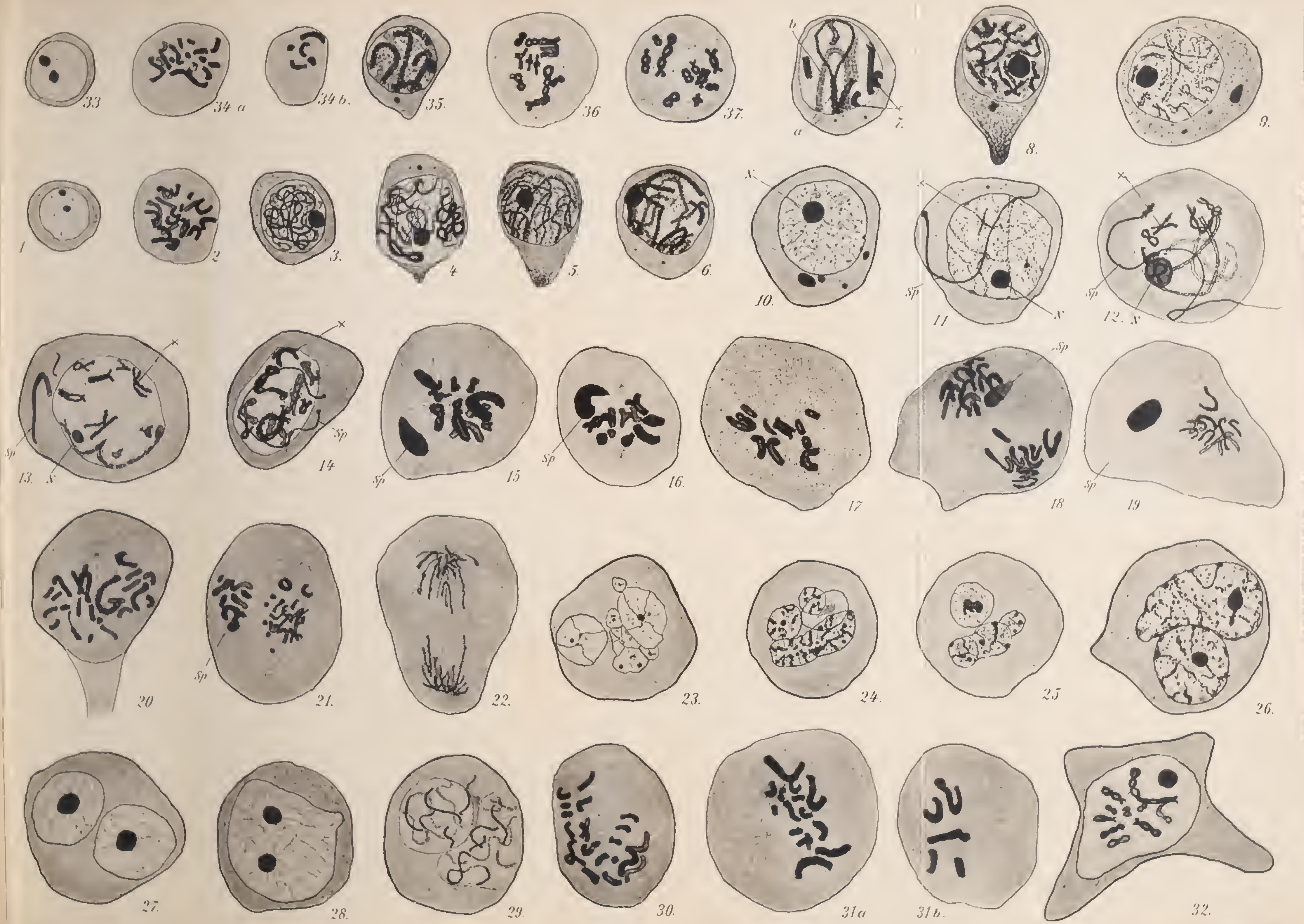
Fig. 29. Differenzierung der Chromosomen der I. Furchungsmitose, Nucleolus verschwunden.

Fig. 30. Prophase der ersten Furchungsmitose, 20 Chromosomen.
Fig. 31 *a* u. *b*. Desgleichen Metaphase.
Fig. 32. Unbefruchtet gebliebenes Ei, zehn Chromosomen, Nucleolus erhalten.

Spermatogenese.

Fig. 33. Ruhende Spermatogonie, zwei Chromatinnucleolen.
Fig. 34 *a*. u. *b*. Spermatogonienmitose, 20 Chromosomen.
Fig. 35. Pachytänes Bukett.
Fig. 36. Prophase der I. Spermatocytenteilung, zehn bivalente Chromosomen.
Fig. 37. Desgleichen.




33
34 a
34 b.
35.
36
37.
b
a
c
7.
8.
9.
1
2
3.
4
5.
6.
x
10.
x
Sp
11
x
x
Sp
12. x
x
Sp
13. x
x
Sp
14
Sp
15
Sp
16.
17.
Sp
18.
Sp
19
20
Sp
21.
22.
23.
24.
25
26.
27.
28.
29.
30.
31 a
31 b.
32.

Sur la persistance des résidus fusoriaux pendant les nombreuses générations cellulaires au cours de l'ovogénèse de Vespa vulgaris L.

Par

Stanisław Maziarski

(Cracovie).

Avec la planche XL.

Pendant le dernier stade de la division cellulaire, la télophase, quand la reconstitution des noyaux-filles se réalise, nous voyons les fibres du fuseau caryocinétique, qui unissaient auparavant les deux centrosomes, parcourir le corps cellulaire d'un noyau à l'autre. En ce moment apparaît sur la surface de la cellule au niveau de l'équateur un sillon orienté perpendiculairement sur l'axe qui unit les deux pôles cellulaires, d'abord peu profond, qui s'accentue de plus en plus et enfin étrangle complètement le corps cellulaire et avec lui le faisceau des fibrilles fusoriales, qui se présentent comme une gerbe. Sur les filaments periphériques de cette gerbe se différencient en ce moment des épaississements en forme et nombre variables, qui se colorent très énergiquement à l'hématoxyline ferrique et prennent ensemble la forme d'une couronne de grains. Quand l'étranglement de la cellule s'avance, les épaississements se fusionnent en un corps fortement coloré connu sous le nom de corps intermédiaire de Flemming, de plaque fusorial (Carnoy) ou de couronne granuleuse équatoriale (Bouin).

Très souvent, quand les fibrilles sont très minces et très nombreuses, les nodosités situées sur leur trajet n'apparaissent pas comme des points séparés et distincts, mais elles se fusionnent en une ligne nette qui prend naturellement la configuration d'un anneau fortement coloré, entourant la gerbe de fibrilles fusoriales.

Dans ces conditions nous voyons deux cellules-filles réunies ensemble par une gerbe de fibrilles à trajet parallèle, étranglée au milieu par le

sillon équatorial. C'est la formation connue sous le nom de résidu fusorial, qui est constitué par les filaments du fuseau caryocinétique étranglés à l'équateur. Le résidu fusorial ne persiste pas longtemps dans les cellules-filles; au moment de la séparation des cellules il se rompt au niveau de la plaque fusoriale et les deux moitiés du résidu s'effacent bientôt dans le protoplasme des cellules sans laisser aucune trace de leur existence. Seulement la plaque fusoriale, c'est à dire cette couronne granuleuse formée des épaississements situés sur le parcours des filaments fusoriaux, persiste après s'avoir rompue en deux parties, quelque temps encore sur la surface de chaque cellule-fille et représente la formation décrite par M. Heidenhain (7) sous le nom de »Zellennabel« ombilic de la cellule. Mais ce dernier disparaît aussi bientôt, et avec lui il ne reste aucune trace de la division que la cellule en question a subie récemment.

Dans certaines circonstances et dans certains éléments cellulaires le résidu fusorial (les filaments ainsi que la plaque fusoriale) persistent dans les cellules pendant un temps beaucoup plus long; alors que les cellules-filles subissent une nouvelle division, les résidus fusoriaux de la cytodiérèse précédente se trouvent encore dans leur cytoplasme très bien évidents et conservés. Dans ce cas nous voyons des résidus fusoriaux dans le protoplasme des nouvelles cellules-filles comme des cordons plus ou moins distincts, de structure plus ou moins fibrillaire avec des plaques fusoriales sous la forme de cercles fortement colorés. Les résidus d'une nouvelle division se soudent très souvent avec les résidus des divisions précédentes et réunissent ensemble toutes les cellules provenant d'une seule cellule-mère par des cordons protoplasmiques, formés par les filaments fusoriaux condensés. On a donné à ces formations le nom de «ligaments intercellulaires» (Zellkoppel — Zimmermann [16]). Les cellules réunies par ces ligaments se groupent de façon assez caractéristique formant des rangées, des cordons, des rosettes ou d'autres figures stellaires plus ou moins régulières.

La persistance des résidus fusoriaux ainsi que la formation de ligaments intercellulaires réunissant les cellules issues d'une même cellule-mère ont été décrites et figurées par quelques auteurs surtout pendant la spermatogénèse chez diverses espèces d'animaux.

Une mention tout à fait courte sur les ponts ou ligaments intercellulaires se trouve dans le travail de Platner (13), qui s'occupe des processus caryocinétiques des spermatocytes chez les Lépidoptères. L'auteur a constaté dans le protoplasme de spermatocytes la présence de corps irréguliers, situés dans une cavité, dans une vacuole, et a observé,

que deux de ces corps situés dans deux cellules voisines étaient très souvent réunis ensemble par un pont. L'auteur a observé même trois cellules liées par des ponts qui réunissaient ces corps intraprotoplasmiques. Ils possèdent une certaine ressemblence avec les Nebenkerne. PLATNER (l. c.) suppose cette parenté, mais d'autre part il lui semble, que les corps en question ne possèdent pas toutes les propriétés des Nebenkerne.

Des observations analogues ont été faites aussi par PRENANT (14) dans les éléments séminaux des Gastéropodes. Il a vu dans la glande hermaphrodite deux ou trois cellules voisines liées ensemble par des ponts intercellulaires, dont la partie intracellulaire se présente comme un corps conique de forme irrégulière.

Nous trouvons une description plus complète des ligaments intercellulaires dans le travail de ZIMMERMANN (16). L'auteur s'occupe des processus qui ont lieu dans les tubes de la glande hermaphrodite d'*Helix pomatia* pendant la spermatogénèse et fait l'observation, que toutes les cellules qui prennent origine de la même cellule-mère »Familie« sont réunies ensemble par »einen eigentümlichen protoplasmatischen Strang« auquel il donne le nom de »Zellkoppel«. Le parcours de ce ligament intercellulaire ainsi que sa manière d'être dans les cellules sont décrits dans les termes suivants: »Von der Zellkoppel geht nach jeder Zelle derselben Familie ein kurzer Ast, der an der Zellmembran mit einem mehr oder weniger deutlichen Knöpfchen endigt. Von diesem Knöpfchen aus sehe ich feine Fädchen in das Zellinnere dringen und sich mit dem Protoplasmanetz vereinigen. Es ist noch hier zu bemerken, daß alle Zellen ein und derselben Familie stets derselben Generation und derselben Teilungs- und Entwicklungsphase angehören« (pag. 189). L'auteur ne partage pas la manière de voir de PLATNER (l. c.) et ne croit pas, que ces formations en disparaissant du protoplasme cellulaire puissent former des Nebenkerne.

C'est au travail de BOLLES LEE (2) que nous devons la description spéciale des ligaments intercellulaires ainsi que l'interprétation sûre de leur signification, de leur origine et de leur formation dans les éléments cellulaires. Les observations de l'auteur se basent sur l'étude de la spermatogénèse chez l'*Helix*. Il a observé que pendant la télophase du processus caryocinétique des spermatocytes les filaments fusoriaux forment une gerbe qui est bientôt étranglée par la membrane qui se fait entre deux cellules-filles. Dans cet endroit il se différencie, sur le parcours des fibrilles, des nodosités (microsomes) qui forment ensemble la plaque fusoriale. Très souvent des microsomes font défaut ou ils sont tellement petits, qu'on ne peut pas les observer séparément, très souvent l'auteur

les a vus se fusionner pour former un cercle continu. Dans les stades suivants la plaque fusoriale se dédouble et se présente comme deux rangées de microsomes ou deux cercles qui restent séparés l'un de l'autre par un court pont de substance fusoriale claire et uniforme. D'après l'auteur il n'y a aucun doute que le pont qui réunit les deux cellules-filles soit autre chose que les fibrilles du fuseau caryocinétique, que le résidu fusorial. Après la reconstitution des noyaux-filles l'union des fibrilles avec les noyaux se rompt, les fibrilles se raccourcissent, se condensent jusqu'à ce que la structure de ce cordon devienne de plus en plus uniforme. Après la formation de la plaque fusoriale le fuseau entier est divisé en deux moitiés; l'auteur compare ces restes à des comètes, dont la queue fibrillaire se trouve dans le cytoplasme de chaque cellule-fille et dont la tête siège à l'endroit de la plaque fusoriale. Après la séparation complète des cellules-filles on observe dans leur protoplasme des résidus sous la forme de courtes ramifications qui pénètrent dans le corps cellulaire. L'auteur leur donne le nom de «moignons fusoriaux»; ils possèdent la figure d'une trompette et occupent de petites vacuoles dans le protoplasme des cellules, tout près de leur surface. Cette position des moignons fusoriaux dans les vacuoles permet de différencier ces formations des Nebenkerne. De la partie épaissie du moignon partent de minces prolongements qui se terminent librement par des nodosités à la paroi de la vacuole protoplasmique. La plaque fusoriale ne coupe pas le fuseau complètement; celui-ci persiste assez longtemps, et très souvent s'allonge en un pont, «pont fusorial», qui peut atteindre entre les deux cellules-filles une longeur assez grande.

Ainsi se réalisent entre les cellules, provenant de la même spermatogemme, les ponts intercellulaires, qui les unissent ensemble. Quant au parcours de ces ponts, l'auteur a constaté qu'il est intracellulaire et qu'il est seulement dans une petite partie intercellulaire.

La chaîne qui réunit alors les cellules est formée des résidus fusoriaux, qui persistent pendant les nouvelles divisions de mêmes éléments et s'accolent à des résidus nouveaux. Quant au mécanisme de la formation de la chaîne fusoriale, elle se fait d'après l'auteur dans les conditions suivantes: persistance des résidus pendant un temps plus long, divisions successives des cellules qui possèdent des résidus, enfin un certain angle sous lequel les divisions ont lieu. D'après l'auteur il est aussi nécessaire que le résidu de la caryocinèse précédente soit entraîné «par le mouvement centripète de l'étranglement plasmodiérètique jusque vers l'axe de la figure. Là, il se rencontrera avec la portion équatoriale du nouveau fuseau et pourra se fusionner avec lui». La chaîne de ponts fusoriaux

se produit toujours, quand dans les cellules à fuseau persistant toute une série de divisions se succède à angle droit.

Henneguy (8) décrit de semblables ligaments intercellulaires dans les spermatocytes chez *Caloptenus italicus*, où les cellules en question sont groupées par 5 ou 6 autour d'un centre commun, de telle façon qu'elles possèdent la figure de secteurs de cercle. Les noyaux se trouvent dans la partie périphérique, tandis que les parties centrales des cellules sont réunies ensemble par un lien cellulaire de forme polygonale. L'auteur croit que ce pont, constitué de quelques résidus fusoriaux, prend naissance à la suite de plusieurs divisions d'une cellule-mère; après chaque division apparaît un faisceau qui persiste pendant la division suivante et se soude par l'un de ses extrémités au nouveau faisceau. D'après Henneguy (l. c.) ces liens cellulaires sont le mieux visibles dans la spermatogénèse de divers animaux.

Erlanger (3) interprète de la même façon de courts pédicules qui unissent les cellules testiculaires (Spermatogonien) dans les follicules du testicule de Lombric. Les cellules sont pyriformes et les pédicules de toutes les cellules se rencontrent dans un point central du follicule. Les pédicules possèdent une structure fibrillaire, et l'auteur croit que ce sont là des résidus fusoriaux, tandis que les formations semilunaires fortement colorées sur le parcours des pédicules représentent les restes de la plaque cellulaire ou du corps intermédiaire. D'après l'auteur il existe des relations très étroites entre toutes les cellules du même follicule; tous les noyaux possèdent la même structure et montrent en cas de division le même stade de caryocinèse. C'est pourquoi il suppose que très probablement le follicule entier prend origine des divisions successives d'une seule cellule-mère, qu'il appelle »Urkeimzelle«. Quant aux ligaments intercellulaires qui réunissent toutes les cellules d'un follicule, il suppose que ces formations apparaissent toujours en ce cas, quand plusieurs cellules issues d'une cellule-mère, s'arrangent ensemble pour former un groupe ou un follicule.

Les conditions nécessaires pour provoquer ces phénomènes sont d'après l'auteur au nombre de deux: »Persistenz der im Äquator eingeschnürten Spindel und Teilung unter einem sehr großen Winkel.«

Dans un autre travail Erlanger (4) s'occupe encore plus complètement de la question des ponts intercellulaires et s'exprime sur le mode de la formation de ces liens dans les termes suivants: »Die Zellkoppel kommt dadurch zustande, daß eine Anzahl von karyokinetischen Teilungen aufeinanderfolgen und zwar so, daß die Teilungsachsen abwechselnd

aufeinander stehen und die Spindelreste während der successiven Teilungen erhalten bleiben.«

Erlanger (l. c.) décrit les mêmes images aussi dans l'ovaire de Lombric, où les cellules sont couplées ensemble par des ligaments intercellulaires.

Wagner (15) a fait les mêmes observations pendant la spermatogénèse chez les Araignées et décrit des groupes de spermatides qui étaient liés ensemble par des ponts intercellulaires; il suppose qu'ils répondent aux résidus fusoriaux de deux divisions des spermatocytes de premier et de second ordre.

Meves (12) a observé aussi pendant la spermatogénèse chez la Salamandre des résidus fusoriaux restés en rapport très étroit avec les microcentres. Il donne à ces ponts le nom de »Sphärenbrücken« et interprète leur origine en supposant que les sphères attractives se soudent avec les résidus fusoriaux persistants.

Comme nous le voyons par ce court exposé bibliographique[1]) la plus grande partie des observations a été faite sur les éléments du testicule, dans lesquels les images des liens cellulaires sont vraiment très évidentes et distinctes. Dans les travaux cités plus haut (p. e. chez Erlanger et Meves) nous trouvons mentionné brièvement, que de pareilles images ont été observées aussi dans les éléments de l'ovaire chez divers animaux; mais nous avons vu seulement une figure reproduite, qui représente les ponts en question dans les cellules génératives femelles (voir Meves [l. c.] Pl. III, fig. 39). Dans la bibliographie qui était à notre disposition nous n'avons trouvé qu'un travail de Giardina (5) qui décrit et figure des formations assez semblables dans les éléments en voie d'ovogénèse chez le *Dytiscus.*

L'auteur montre que d'une cellule indifférente, nommée «ovogonie», proviennent par quatre divisions successives 16 cellules, dont l'une est l'oocyte (O_{16}) et les 15 autres cellules (N_{16}) représentent les cellules nourricières. Ces 16 cellules forment un groupe, une rosette et sont liées ensemble par un large pont protoplasmique, qui donne à ce groupe une figure caractéristique. Tantôt l'oocyte, dont le volume est beaucoup plus grand que celui des cellules nourricières, porte lui-même un pédicule large, sur lequel s'implantent les cellules nourricières au moyen de prolongements courts; tantôt les cellules nourricières forment une couronne, une coupole autour de l'oocyte et s'implantent presque di-

---

[1]) Un exposé bibliographique plus complet se trouve chez Henneguy: Leçons sur la cellule. Paris 1896.

rectement sur lui. Dans ces deux cas la région, où toutes les cellules nourricières se rencontrent avec l'oocyte, est occupée par le résidu fusorial bien délimité du protoplasme et différencié par sa coloration du protoplasme ambiant. D'ailleurs les résidus fusoriaux ne se présentent pas comme des cordons fibrillaires nets, mais plutôt comme un corps de forme irrégulière, un peu ramifié. Les ramifications se réunissent avec des prolongements des cellules nourricières et disparaissent dans leur protoplasme. En tout cas, pendant l'ovogénèse du *Dytiscus* les résidus fusoriaux ne sont pas aussi évidents que p. e. pendant la spermatogénèse chez les divers animaux, car les cellules sont ici très pressées les unes contre les autres. Bien visible dans le stade de deux cellules, le résidu fusorial prend déjà pendant les nouvelles divisions la forme d'un corps irrégulier à coloration protoplasmique plus forte, situé dans l'endroit où les cellules issues d'une cellule-mère se réunissent ensemble. C'est seulement plus tard, quand l'oocyte et les cellules nourricières augmentent de volume, que se réalisent des connexions plus étroites entre les cellules nourricières et l'oocyte sous la forme d'expansions du corps protoplasmique des premières, qui pénètrent dans le corps de l'oocyte; l'auteur suppose que ce sont les résidus fusoriaux anciens qui avaient uni les cellules ($O_{16} + N_{16}$) en une rosette.

Un objet très favorable pour la démonstration des ligaments intercellulaires aussi pendant l'ovogénèse est celui des ovaires de *Vespa vulgaris*. Avant de nous occuper de la description des images observées nous voulons en quelques mots présenter le mode et la technique de nos recherches. — Le matériel dont nous nous sommes servi provenait de Vespes femelles ramassées au mois d'Avril et de Mai, chez lesquelles les ovaires étaient déjà bien développés et montraient, auprès de nombreuses cellules qui subissent les processus de différenciation pour devenir les œufs et les cellules nourricières, aussi des œufs complètement développés de volume considérable.

Ces ovaires étaient fixés en place, après l'ouverture de l'abdomen de l'animal narcotisé, dans les liquides de Bouin, Mann, de Flemming ou dans le sublimé acétique, puis enlevés très soigneusement et la fixation finie, ils étaient lavés à l'eau, durcis dans l'alcool à concentration progressive et inclus à la façon habituelle dans la paraffine. Les coupes, d'une épaisseur de 4—6 μ, étaient ensuite colorées de diverses façons; les meilleurs résultats ont été obtenus après coloration à l'hématoxyline ferrique d'Heidenhain et coloration secondaire par l'éosine ou vert-lumière.

Les préparations d'ovaire de la Vespe présentent beaucoup de parti-

cularités qui méritent d'être traîtées plus abondamment; mais pour le moment le matériel dont nous disposons est trop restreint, c'est pourquoi il nous est impossible de pouvoir répondre avec toute l'exactitude désirable sur les nombreuses questions qui se posent en examinant les préparations et qui semblent être bien intéressantes. Aussi remettons-nous les recherches complètes sur l'ovogénèse chez la Vespe pour un autre travail plus détaillé et pour le moment où nous aurons à notre disposition un matériel beaucoup plus riche. Pour le moment nous voulons seulement présenter dans ce court exposé les faits observés avec précision; c'est la persistance des résidus fusoriaux pendant les nombreuses divisions cellulaires, qui produit chez cet animal des ligaments cellulaires d'une netteté encore plus grande que dans la spermatogénèse chez les autres animaux examinés.

Examinant soigneusement les préparations d'ovaire de la Vespe nous voyons dans la partie terminale de l'organe de nombreuses cellules aux divers stades de cytodiérèse ainsi que d'autres au repos disposées en des groupes de forme variable. Toutes les cellules appartenant à un groupe sont réunies ensemble par les ligaments cellulaires très nets et de parcours variable. Les ligaments sont constitués — ainsi qu'on peut le confirmer très facilement — par des résidus fusoriaux persistants. On voit encore très bien des plaques fusoriales entre deux cellules-filles sous la forme d'anneaux fortement colorés par l'hématoxyline ferrique. La présence de plaques fusoriales à l'endroit des limites intercellulaires permet de préciser tout à fait sûrement le nombre de divisions, que la cellule en question a subies. Une netteté très grande des images permet d'étudier le mode de parcours intra- et intercellulaire des ligaments de la façon la plus exacte.

Avant de nous occuper de l'interprétation des images observées, nous voulons d'abord donner une description détaillée de diverses formes des résidus fusoriaux et des plaques fusoriales dans les cellules tantôt séparées tantôt unies ensemble en des groupes ou cordons.

La figure 1 sur la planche XL représente une cellule-fille, dans laquelle nous voyons une plaque fusoriale bien évidente, colorée en noir par l'hématoxyline ferrique, sous la forme d'un cercle, qui observé de côté possède naturellement la forme d'une ellipse, située tout à fait à la surface de la cellule figurée, c'est à dire à l'endroit où le fuseau de division est étranglé par le sillon séparant les deux cellules-filles. De la plaque fusoriale part se dirigeant dans l'intérieur de la cellule un faisceau assez large de fibrilles qui se présentent plutôt comme un cordon à structure fibrillaire. Ce cordon, d'abord unique, se divise bientôt en deux portions qui s'inclinent sur les côtés du noyau cellulaire, se dispersent en

fibrilles séparées et se soudent avec les fibrilles de la charpente cellulaire qui montre une structure réticulo-fibrillaire peu distincte. Il n'y a aucun doute que nous ayons sous les yeux le résidu fusorial, provenant du fuseau caryocinétique de la cellule-mère, qui persiste sous cette forme un peu altérée dans les cellules-filles, dont l'une est représentée sur la figure.

La figure 2 (pl. XL) représente une cellule qui possède à sa surface deux plaques fusoriales et dans son intérieur des résidus fusoriaux, dont le parcours est déjà plus compliqué que sur la figure précédente. La cellule dessinée a subi deux divisions successives, de quoi témoignent deux plaques fusoriales et le résidu ramifié. Les plans de division, comme le démontrent très bien les plaques fusoriales, se sont croisés sous un certain angle, et le résidu fusorial de la division secondaire s'est soudé avec celui de la division première aussi sous un angle. Le cordon fibrillaire qui unit directement les plaques est bien évident, les parties pariétales du résidu se dispersent bientôt en des filaments séparés, qui se disséminent dans le protoplasme de la cellule, où ils s'unissent avec le réticulum de la charpente cellulaire formant une fibrillation assez évidente sur les côtés du noyau cellulaire.

La cellule reproduite sur la figure 3 (pl. XL) reste en liaison directe avec trois cellules voisines; elle est dessinée seule. Sur la surface cellulaire on aperçoit trois plaques fusoriales, très évidentes, fortement colorées par l'hématoxyline ferrique, qui n'ont pas la forme de cercles, mais plutôt de deux lignes parallèles réunies à leur bout; ces bouts collés ensemble ont la configuration d'une petite corne, dirigée vers la partie médiane de la cellule. Chaque plaque fusoriale représente l'endroit par lequel passent d'une cellule à l'autre les résidus des fuseaux caryocinétiques. Dans la cellule dessinée on voit trois résidus bien distincts, qui s'unissent ensemble et forment une figure triangulaire, bien délimitée du protoplasme ambiant, qui occupe les parties plus superficielles de la cellule; c'est ce que prouve l'image du noyau qui est couvert partiellement par le résidu situé au-dessus de lui, on ne le voit qu'en manœuvrant avec la vis micrométrique. Le triangle formé par les résidus fusoriaux montre une structure évidemment fibrillaire; les deux branches résiduelles sont assez larges, la troisième plus étroite; les filaments dont elles sont composées s'entrecroisent jusqu'à un certain point au milieu du triangle résiduel.

Une image encore plus bizarre est celle de la figure 4 (pl. XL), sur laquelle nous voyons une cellule reliée au moyen des ponts cellulaires avec quatre cellules voisines, formant ensemble un groupe. Ce fait est attesté par la présence, dans la cellule figurée, de quatre plaques fusoriales

et de trois résidus fusoriaux bien distincts, nettement développés. Ces derniers prennent origine dans un endroit du corps cellulaire, où nous les voyons collés ensemble; de ce point les cordons fusoriaux parcourent la cellule dans trois directions et finissent dans les plaques fusoriales correspondantes. Les résidus occupent la partie superficielle de la cellule tournée vers l'observateur; ce dont témoigne l'image du noyau qui est partiellement couvert par le cordon fusorial traversant la cellule horizontalement.

Très intéressante est la figure suivante 5 (pl. XL), qui représente une cellule séparée d'un groupe de cinq cellules, avec lesquelles elle était en liaison, ce que prouve la présence de cinq plaques fusoriales sur la surface cellulaire. Le parcours des résidus fusoriaux est ici très curieux. Autour du noyau cellulaire court un cordon de structure fibrillaire, bien évident et nettement délimité du côté du protoplasme ambiant, qui montre une structure réticulaire. Ce cordon n'est pas uniforme, mais il est composé de cinq cordons plus courts qui se sont collés ensemble dans leur parcours pour former un cercle complet. Avec ce cercle sont unies cinq plaques fusoriales au moyen de branches qui traversent les plaques et qui passent dans les cellules voisines de celle qui est dessinée. Les résidus fusoriaux persistants dans la cellule après chaque nouvelle division de même élément, séparés d'abord, se sont fusionnés les uns aux autres de telle façon qu'ils ont formé un cercle entourant le noyau.

Les figures suivantes se rapportent à des groupes de cellules réunies ensemble par des liens (ponts) cellulaires. Tout d'abord nous voulons appeler l'attention sur ce fait, que des divisions successives d'une cellule-mère naissent des cellules filles, qui se divisent bientôt et donnent de nouvelles générations cellulaires, de nouvelles cellules-filles. De cette façon se réalisent, après quelques cytodiérèses d'une seule cellule-mère, des groupes cellulaires qui montrent une configuration très variable, tantôt celle d'une rangée ou d'un cordon cellulaire (figs. 6, 7), tantôt celle d'une rosette (fig. 8), tantôt enfin celle d'un groupe de forme tout à fait irrégulière (figs. 9, 10).

Regardons d'abord la figure 6 (pl. XL), qui représente un cordon (sur la figure il n'est pas dessiné dans toute son étendue) composé de trois cellules. Toutes ces cellules sont liées ensemble par un long résidu fusorial sous la forme d'un cordon à structure nettement fibrillaire, qui traverse les cellules. Il commence dans la cellule en haut, où nous voyons la plaque fusoriale correspondante, court tout près du noyau cellulaire en le couvrant un peu, traverse ensuite une autre plaque fusoriale pour passer dans la cellule voisine, où son parcours est presque identique à

celui qu'il avait dans la première cellule. Puis après avoir traversé la troisième plaque fusoriale il se divise en deux portions qui marchent séparément des deux côtés du noyau de la troisième cellule pour passer par de nouvelles plaques fusoriales dans les cellules voisines. A côté de ce résidu fusorial, que nous voulons nommer «principal», et qui traverse directement trois cellules, il existe dans la cellule médiane deux autres résidus qui se soudent avec le résidu principal sous un certain angle. L'un finit sur le côté à la surface cellulaire sans offrir sur la coupe la plaque fusoriale correspondante; l'autre vu de face se présente seulement comme un corps rond composé de fines granulations colorées en rouge (coupes transversales de filaments fusoriaux) entouré par le cercle fortement coloré — la plaque fusoriale. Ce résidu est situé, comme on voit très facilement, au-dessus du noyau cellulaire. Il faut mentionner encore que les cellules diffèrent par leur volume, si l'on examine la rangée de haut en bas.

La figure 7 (pl. XL) représente une partie d'un groupe composé de quatre cellules, dont deux se caractérisent par leur volume beaucoup plus considérable que les deux autres. Toutes les cellules sont liées ensemble par le résidu fusorial qui prend la configuration d'un cordon de structure fibrillaire bien évidente, passant d'une cellule à l'autre et traversant les plaques fusoriales correspondantes. Ce cordon, dont l'épaisseur varie, est beaucoup plus gros dans les grandes cellules, plus délicat dans les autres. Dans une des cellules volumineuses, coupée un peu tangentiellement, on aperçoit encore une plaque fusoriale distincte, sous la forme d'un cercle fortement coloré; son milieu est occupé par des fibrilles fusoriales coupées en travers, qui s'unissent directement avec le résidu fusorial principal sous un angle de 90°. Ce résidu, avec la plaque correspondante, appartient à la cellule située au dessus de la cellule dessinée, par conséquent au-dessus du plan de section. Dans les petites cellules nous voyons des résidus beaucoup plus délicats, qui traversent les parties superficielles du corps cellulaire, bien délimités du protoplasme ambiant, et qui passent ensuite par l'intermédiaire de plaques fusoriales nouvelles, dans les cellules voisines du même groupe.

La figure 8 (pl. XL) montre un arrangement tout à fait autre des cellules liées par des ponts cellulaires. Nous y voyons la coupe d'un groupe de cellules, qui se disposent assez régulièrement et forment une rosette composée (sur le plan de section) de cinq cellules. La forme des cellules n'est plus polyëdrique, mais plutôt pyriforme et elles s'orientent pour former la rosette de telle façon, que leurs bouts plus étroits délimitent un espace rond qui paraît être tout à fait vide. Celui-ci est encore

délimité de façon plus précise par un cordon de structure fibrillaire, plus fortement coloré, duquel partent s'enfonçant dans chaque cellule des faisceaux de fibrilles minces et délicates qui rayonnent dans le protoplasme vers le noyau cellulaire. Ces courts faisceaux intracellulaires s'unissent plus intimement avec le cordon principal délimitant l'espace central et forment avec lui un corps plus ou moins uniforme. Il n'y a aucun doute que nous ayons ici à faire à des résidus fusoriaux offrant ici un trajet bien différent de celui des figures précédentes. Il est aussi intéressant que les plaques fusoriales font ici complètement défaut: nous ne pouvons pas répondre tout à fait sûrement sur la cause de leur absence, et dire s'il est la faute de la décoloration à l'alun de fer ou de la disparition plus précoce des plaques de la cellule.

La figure 9 (pl. XL) représente un groupe cellulaire, dans lequel les cellules, une fois les cytodiérèses finies, se sont éloignées les unes des autres; ce qui fait que les ponts cellulaires qui les unissent, sont devenus plus libres et ont un trajet plutôt intercellulaire. Un cordon fusorial fortement développé, de structure manifestement fibrillaire, traverse l'espace compris entre les six cellules (l'une d'elles est coupée très superficiellement) par conséquent l'espace intercellulaire et unit directement la cellule première en haut de la rangée avec la dernière en bas. A côté de ce cordon principal nous voyons entrer dans l'intérieur d'autres cellules appartenant à ce groupe de petits faisceaux de fibrilles fusoriales, qui se disséminent dans leur protoplasme et s'unissent directement avec les travées de la charpente cellulaire. Dans l'endroit, où les résidus secondaires se soudent avec le cordon principal et traversent la membrane cellulaire peu visible, nous voyons une ligne de démarcation assez nette, plus fortement colorée, qui correspond sans doute aux plaques fusoriales; celles-ci ne montrent pas ici de coloration noire comme dans les figures précédentes, très probablement à cause d'une différenciation trop poussée par l'alun de fer. Dans les lignes de démarcation les petits faisceaux intracellulaires semblent s'être confondus plus intimement avec le cordon fusorial principal.

Un trajet encore plus bizarre des résidus fusoriaux est celui de la figure 10 (pl. XL), sur laquelle nous avons reproduit un groupe de 8 cellules, dont le volume ainsi que la forme sont variables. Les cellules sont réunies ensemble par des ramifications vraiment bizarres des résidus fusoriaux, dont le parcours est tantôt intra- tantôt intercellulaire. Les cellules les plus éloignées du groupe sont réunies directement par un cordon fusorial principal de structure nettement fibrillaire; de celui-ci prennent naissance des ramifications de longueur variable qui pénètrent

dans les autres cellules du groupe. Après avoir traversé les membranes cellulaires, les cordons se disséminent en de minces fibrilles séparées, qui s'unissent immédiatement avec les travées de la charpente cellulaire de structure réticulaire plus ou moins accentuée. L'épaisseur des diverses parties des résidus est variable; les plus épais sont les segments du résidu situé entre les cellules. Les plaques fusoriales ne sont pas ici visibles aussi distinctement que sur les figures précédentes à cause de la décoloration trop poussée pendant la différenciation à l'alun de fer. On les distingue d'ailleurs comme des lignes plus fortement colorées, de la même façon que la substance des résidus. Cela produit des lignes de démarcation sur le parcours du résidu principal.

Une image très intéressante, que nous reproduisons encore, est présentée par la figure 11 (pl. XL). Nous y voyons un groupe de cinq cellules, qui toutes se trouvent dans la période de division caryocinétique. Ce qui saute surtout aux yeux c'est le synchronisme du stade de division. C'est celui de monaster vu de côté. On voit très bien la forme caractéristique des fuseaux avec des pôles entourés d'un petit amas d'archoplasme; les filaments fusoriaux se rencontrent dans l'équateur de la cellule et sur leur parcours se trouvent disséminés les petits chromosomes de forme de courtes et petites baguettes, dont le nombre est assez grand et difficile à compter. Toutes les cellules sont orientées autour d'un axe qui est occupé par un cordon assez épais de structure fibrillaire, qui comme nous avons vu auparavant, ne peut être autre chose que le résidu fusorial de divisions anciennes. Deux cellules du groupe — en haut et en bas — sont réunies par le cordon principal; il donne pour les cellules situées de côté de courtes branches qui pénètrent dans l'intérieur des cellules. Le résidu principal ainsi que ses ramifications s'unissent directement avec les fuseaux de division actuels, de telle façon que dans un point donné les résidus fusoriaux, qui le plus souvent montrent plutôt seulement une structure fibrillaire plus ou moins évidente, se disséminent en de nombreuses fibrilles séparées, qui forment de nouveaux fuseaux. Les filaments fusoriaux sont des prolongements directs des résidus anciens.

Les centrosomes caractéristiques de chaque figure caryocinétique ne se rencontrent qu'aux pôles tout à fait libres, — on les voit très bien dans deux cellules — les autres pôles, dans lesquels les fuseaux nouveaux communiquent avec le résidu fusorial de la division précédente, semblent être privés de centrosomes. Il est possible qu'ils s'y trouvent, mais ils sont tellement empâtés dans les nombreux filaments très condensés du résidu fusorial, qu'ils n'apparaissent pas et ne peuvent être démontrés si facilement.

Entre les espaces intercellulaires pénètrent encore de courtes branches du résidu principal qui restent sans doute en connexion avec d'autres cellules du même groupe, qui se trouvent dans d'autres plans de section, au-dessus ou au-dessous de celui qui est repoduit sur la figure. Et vraiment comparant les images correspondantes sur les coupes précédentes et suivantes, nous parvenons à cette opinion, que nous avons à faire à un cordon cellulaire, dans lequel toutes les cellules réunies ensemble par le résidu fusorial axial ramifié, présentent le même stade de caryocinèse; le synchronisme est alors très évident dans le groupe cellulaire entier. —

Après avoir décrit avec détails les figures qui accompagnent notre travail et qui montrent avec la plus grande netteté toutes les particularités sur lesquelles nous avons voulu appeler l'attention, nous passons maintenant à la partie théorique de notre exposé, dans laquelle nous nous occuperons de la signification des images observées, de leur interprétation, de leur mode d'origine. Nous essayerons aussi d'élucider, quelle est la cause de la persistance si longue des résidus fusoriaux, et quelle est la nature dans notre objet d'étude des éléments qui se couplent ensemble par des ponts cellulaires.

En premier lieu il faudrait répondre à la question de savoir, quelle est la signification des cordons si distincts qui traversent les cellules en des directions variables et les unissent ensemble en des groupes, rosettes, rangées etc. Il nous semble que cette question est si simple et claire, qu'il n'est pas besoin de s'en occuper autrement que brièvement. Un coup d'œil jeté sur les figures 1—11 (planche XL) persuadera chacun que nous avons ici à faire aux résidus fusoriaux, c'est à dire aux parties centrales des fuseaux caryocinétiques qui persistent plus longtemps non seulement dans les cellules-filles, mais aussi encore dans les générations suivantes de ces dernières, se condensent de plus en plus et prennent la configuration de cordons plus ou moins épais, ne se présentant plus comme des faisceaux de fibrilles, mais montrant seulement une structure fibrillaire plus ou moins accentuée.

Regardant plus soigneusement les figures dans l'ordre où elles ont été rangées sur la planche XL, nous voyons le passage direct des figures les plus simples aux figures plus compliquées du trajet des résidus fusoriaux. Cet examen persuade chacun que la configuration des cordons fusoriaux dépend seulement du nombre des cytodiérèses que la cellule-mère a subies; la configuration de ces formations devient de plus en plus compliquée, quand le nombre des divisions successives augmente et que les cellules-filles issues de nouvelles cytodiérèses se rangent en groupes

de figure variable. Sur la figure 1 nous voyons dans la cellule un seul résidu ramifié après une seule division caryocinétique; la figure 2 montre déjà deux cordons fusoriaux réunis encore par un faisceau secondaire, — trace de deux caryocinèses; sur la figure 3 on voit trois résidus qui se sont collés ensemble et forment une figure triangulaire; sur les autres figures 4 et 5 on voit très bien des résidus au nombre de 4 et 5, témoignant d'un même nombre des divisions antérieures.

Que les cordons fibrillaires que nous voyons dans l'intérieur des cellules et qui les traversent pour passer d'un élément à l'autre, ne puissent pas représenter autre chose que les résidus fusoriaux, cela est prouvé aussi par la présence de plaques fusoriales dans l'endroit, où deux cellules voisines sont liées ensemble par le cordon fusorial. Nous voyons dans cet endroit un anneau bien évident, coloré fortement à l'hématoxyline ferrique, qui correspond à la formation connue sous le nom de plaque fusoriale ou de corps intermédiaire et qui se forme sur les filaments fusoriaux au moment, où dans l'équateur de la cellule-mère commence à apparaître le sillon étranglant le corps cellulaire. Cette plaque fusoriale, comme nous avons déjà mentionné dans l'introduction de notre exposé, peut se diviser en deux plaques parallèles, qui en cas de séparation complète des cellules-filles restent collées à leur surface, où nous les voyons sous la forme de petits cercles bien distincts, bien délimités et colorés. A l'endroit de la plaque se fait souvent une petite excavation, une fossette ronde, qu'Heidenhain (l. c.) a nommée »Zellennabel«, ombilic de la cellule. Ces ombilics sont très bien visibles sur notre objet d'étude et ils se conservent assez longtemps à la surface des cellules, même dans les éléments qui ne portent plus aucune trace de résidus fusoriaux. Ces ombilics ont pour nos recherches une signification importante, car ils permettent de dechiffrer de façon tout à fait sûre le nombre des divisions que la cellule examinée a éprouvées. Le nombre des plaques fusoriales à la surface de la cellule donnée est le nombre même des cytodiérèses.

Après avoir démontré de façon tout à fait certaine que les formations observées dans le protoplasme des cellules examinées ne sont autre chose que les résidus fusoriaux qui persistent pendant les divisions successives des mêmes éléments et se soudent ensemble pour former des liens cellulaires de parcours très variable, nous croyons nécessaire de donner une interprétation touchant le mécanisme et les conditions, suivant lesquels ces formations se réalisent.

Examinant plus soigneusement les cinq figures premières qui reproduisent les cellules séparées de groupes, nous voyons que la configuration

des résidus fusoriaux se complique de plus en plus en relation avec le nombre des divisions que la cellule a subies.

Le parcours d'un seul résidu fusorial (fig. 1, pl. XL) est tout à fait simple; il diffère seulement de celui que nous observons d'ordinaire dans les éléments en ce, que le faisceau se divise bientôt en deux portions longeant les côtés du noyau.

Le trajet du résidu change aussitôt que la cellule à résidu persistant subit une nouvelle cytodiérèse, après laquelle un nouveau résidu apparaît. Pour que les deux résidus de la figure 2 (pl. XL) puissent se fusionner pour former la configuration décrite plus haut, il est nécessaire, que l'axe de la seconde division croise l'axe de la première sous un angle de ca. 60°. Dans ces conditions le résidu de la première caryocinèse tel que le montre la figure 1, se rencontre avec le résidu nouvel de la deuxième division, les segments rapprochés se soudent ensemble et donnent le faisceau qui réunit directement les deux plaques fusoriales.

L'interprétation du mécanisme de la formation du résidu reproduit sur la figure 3 (pl. XL) n'est pas difficile, après ce que nous avons dit plus haut. La cellule-mère a passé trois divisions successives dont chacune a laissé dans le cytoplasme un résidu fusorial persistant. L'axe de la seconde division s'est croisé avec l'axe de la première sous un angle de 120°; l'axe de la troisième division avec celui de la seconde sous un angle de ca. 140°; les résidus fusoriaux se rencontrent dans un point de la cellule au-dessus du noyau et se soudent ensemble pour produire une figure triangulaire, telle que nous la voyons sur la figure.

De la même façon, on peut interpréter les figures suivantes 4 et 5, sur lesquelles la configuration des résidus fusoriaux est beaucoup plus compliquée à cause d'un nombre plus grand des divisions antérieures.

La cellule de la figure 4 a traversé quatre divisions successives se faisant sous des angles divers. Il faut admettre que deux divisions ont eu lieu dans le même axe (sur la figure nous avons désigné cet axe par une ligne et les lettres *a x*) et les résidus se sont fusionnés en un cordon uniforme réunissant directement les deux plaques fusoriales; les axes de deux autres divisions se sont croisés avec l'axe primaire sous un angle de 62 et de 35 degrés. Tous ces résidus se sont rencontrés dans un même point, c'est pourquoi ils semblent rayonner de la plaque correspondante dans diverses directions de la cellule.

Sur la cellule représentée dans la figure 5, nous voyons se répéter le mécanisme de la formation du résidu fusorial de la figure 2, avec cette différence seulement, que la cellule en question possède des résidus liés ensemble après l'accomplissement de cinq cytodiérèses. Les angles sous

lesquels les axes des cytodiérèses successives s'étaient croisés, étaient différents. Regardant l'axe de la première division (sur la figure nous l'avons désigné par une ligne *ax*) comme primaire, nous voyons, que l'axe de la seconde division s'était croisé avec lui sous un angle de 40°, l'axe de la troisième avec celui de la seconde sous 50°, celui de la quatrième division avec l'axe de la troisième sous un angle de 145°, celui de la dernière division avec l'axe de la quatrième sous un angle de 50°. La rencontre des résidus appartenant aux divisions successives et leur soudure ont produit un anneau fusorial autour du noyau cellulaire.

L'interprétation d'autres figures, représentant des rangées ou des groupes cellulaires de configuration variable avec un parcours des résidus fusoriaux plus compliqué, n'offre pas de difficultés après tout ce que nous avons dit plus haut sur le mécanisme de la formation des ponts cellulaires dans les cellules séparées.

Dans la rangée cellulaire reproduite sur la figure 6 (pl. XL) le résidu fusorial principal qui traverse toutes les cellules dessinées a pris origine par la fusion des résidus issus des divisions successives d'une cellule-mère. Toutes ces divisions avaient lieu dans la direction de la division première; les nouveaux fuseaux caryocinétiques étaient les prolongements directs du résidu fusorial de la cytodiérèse précédente. De cette façon il se forme un cordon unique de résidus appartenant à des divisions successives. Deux branches du résidu principal — dans la cellule médiane — proviennent de deux divisions dont l'axe se croise avec celui de la première division sous un angle de 50 et 90°; les deux portions du résidu, que nous voyons dans la dernière petite cellule, dérivent de divisions sous un angle de 48 et 26 degrés.

Il faut admettre le même mécanisme pour la formation des résidus fusoriaux dans le groupe cellulaire, représenté sur la figure 7. Le résidu principal qui traverse trois cellules en occupant les parties les plus superficielles de leurs corps, prend origine de trois divisions successives qui avaient lieu dans la direction de l'axe de la première division. Les cellules issues de ces divisions ont changé un peu leur position réciproque, ce qui a causé le parcours un peu flexueux du résidu fusorial. Les branches du résidu principal proviennent de nouvelles divisions, dont l'axe a croisé celui des divisions précédentes sous des angles de 90 et de 130 degrés.

De la même façon peuvent être interprétées les figures 9 et 10, sur lesquelles nous voyons des groupes de cellules liées ensemble par des ponts cellulaires de configuration très compliquée. Ces groupes prennent

naissance de nombreuses divisions successives d'une cellule-mère, divisions dont les unes ont lieu dans la direction de l'axe de la division précédente et dont les autres croisent cet axe sous des angles d'ouverture différente. Les cellules issues des premières divisions forment des rangées et leurs résidus fusoriaux s'unissent en des cordons (le résidu principal), tandis que les résidus d'autres cellules se soudent sous les angles différents avec le cordon principal et représentent des ramifications latérales de ce dernier. Sur ces dernières figures nous voyons encore que le trajet des ponts est non seulement intra-, mais aussi intercellulaire. Les cellules liées ensemble par des ponts cellulaires se détachent de plus en plus et s'éloignent étant séparées par des cellules provenant de cytodiérèses nouvelles, tandis que les ponts s'allongent et deviennent intercellulaires. Les extrémités ou des ramifications latérales conservent seules leur parcours intracellulaire.

L'arrangement des cellules dans le groupe dépend alors de la direction de l'axe des divisions successives; quand elle reste la même, les cellules nouvelles se groupent en des rangées, et le pont cellulaire se présente comme un cordon unique — résidu principal —; quand l'axe de la nouvelle division croise l'axe de la division précédente, dans cette condition les cellules se rangent en des groupes de figure variable, les résidus nouveaux se soudent sous un angle avec le résidu principal et se présentent comme des branches de celui-ci. En d'autres termes on peut exprimer cette règle, que les cellules se rangent en cordons quand les plans des divisions successives sont parallèles les uns aux autres, en groupes quand ils se croisent sous un certain angle.

Ce que nous avons dit plus haut, à savoir que l'arrangement des cellules dans un groupe ou dans une rangée dépend seulement de l'axe ou du plan des divisons successives, trouve un appui dans la figure 11 (pl. XL), sur laquelle les cellules, orientées sur un axe commun occupé par le résidu fusorial de divisions anciennes, subissent un processus caryocinétique et montrent toutes le même stade de la cytodiérèse.

Comme nous le voyons très bien, les nouveaux fuseaux restent en relation directe avec le résidu fusorial axial et cela de deux façons: de ces fuseaux les uns se trouvent dans la direction de l'axe du résidu principal et les cellules issues de ces divisions produiront des rangées; les autres fuseaux divergent de cet axe sous de certains angles, et les cellules après la division s'arrangeront en un groupe de configuration variable.

Le mécanisme de la formation de liens cellulaires le plus difficile à interpréter est dans la rosette reproduite sur la figure 8 (pl. XL). Le

mécanisme semble être celui qu'accepte Henneguy (8) pour la formation de liens cellulaires dans le testicule chez *Caloptenus italicus* et se présente de la façon suivante: Une cellule-mère subit quatre divisions successives, qui donnent cinq cellules désignées sur la figure par les lettres *a*, *b*, *c*, *d*, *e*. La première division donne les cellules $a+b$, qui sont réunies par un court pont cellulaire, dont les extrémités rayonnent dans le protoplasme des cellules. La deuxième division atteint la cellule *b* (la cellule *a* reste en repos), et produit deux cellules $b+c$ et un pont cellulaire de même configuration que dans les éléments précédents. La troisième division frappe la cellule *c*, et donne les cellules $c+d$, la quatrième enfin la cellule *d*, d'où proviennent les cellules $d+e$ et les résidus correspondants. L'axe de chacune division successive se croise avec l'axe de la division précédente sous des angles de 70 à 80 degrés. Il en résulte d'un côté l'arrangement spécial des cellules sous forme d'une rosette irradiant d'un point central, d'autre côté la rencontre et la soudure de petits résidus fusoriaux persistants dans chaque cellule en un anneau qui d'ailleurs n'est pas fermé. Cette fusion des résidus est partielle, car leurs extrémités libres se disséminent en des fibrilles qui s'unissent directement avec les travées de la charpente cellulaire.

Ce mécanisme est rendu probable par l'absence de lien cellulaire entre la première cellule (*a*) et la dernière (*e*). Le segment du résidu que nous voyons entre ces deux cellules se réunit avec les résidus compris dans les autres cellules situées dans un plan de section différent, au-dessous ou au-dessus de celui qui est reproduit sur la figure.

En résumant tout ce que nous avons dit sur le mécanisme de la formation de ponts cellulaires de configuration variable aux dépens de résidus fusoriaux dans les cellules et leurs groupes, il faut admettre, que leur apparition dépend des conditions suivantes: 1. la persistance du résidu fusorial dans les cellules-filles pendant une ou plusieurs divisions successives, 2. l'angle sous lequel l'axe de la division suivante se croise avec celui de la division précédente. Quand l'ouverture des angles est plus petite, les cellules s'ordonnent après la division en des groupes cellulaires de configuration variée, dans lesquels le trajet des ponts cellulaires est très compliqué; quand l'angle mesure 180°, il se produit des rangées cellulaires, et les liens forment de longs cordons fusoriaux.

Il faut mentionner encore une circonstance, qui explique la position des résidus fusoriaux dans les parties latérales des cellules, telle que nous la voyons sur les figures et qui peut-être facilite jusqu'à un certain degré le fusionnement des résidus persistants pour former des ponts cellulaires. C'est le fait, sur lequel Kostanecki (11) a appelé notre attention, que

pendant la télophase les cellules-filles subissent un changement dans leur position réciproque par ce qu'elles éprouvent une rotation assez forte vers l'axe du fuseau (jusqu'à 90°); elle est cause que le résidu fusorial n'occupe pas le centre de l'étranglement équatorial, mais qu'il est déplacé de côté.

Après avoir présenté la question des résidus fusoriaux, de leur persistance dans les cellules et de la formation à leurs dépens de ponts ou liens cellulaires de configuration variée, nous voulons encore répondre à quelques questions qui semblent être intéressantes. La première serait de savoir, quelle signification il faut attribuer à ces formations et quelle est la cause de leur apparition si nette dans les éléments de l'ovaire de *Vespa vulgaris.*

Dans la plupart des cellules examinées pendant la cytodiérèse, le résidu fusorial ainsi que la plaque fusoriale se développent peu et disparaissent bientôt, avant une nouvelle division de la cellule-fille. Tous ces processus qui ont lieu dans la cellule pendant la télophase et qui intéressent surtout la figure achromatique de la caryocinèse, sont décrits avec détails dans les travaux de Kostanecki (9, 10, 11). La formation du résidu fusorial aux dépens de filaments centraux du fuseau caryocinétique, de la plaque fusoriale sous la forme d'un anneau qui divise le résidu en deux portions appartenant chacune à une cellule-fille, aux dépens de corpuscules fusoriaux, le sort ultérieur des filaments résiduels qui disparaissent bientôt dans le protoplasme cellulaire et de la plaque fusoriale, qui par une fente se dédouble et se confond avec la membrane cellulaire, où nous la voyons longtemps comme un anneau fortement coloré, »Zellennabel« d'Heidenhain, qui disparaît enfin, — tout cela ce sont des faits représentés de façon tout à fait exacte dans les travaux de Kostanecki (l. c.).

La persistance des résidus fusoriaux dans le protoplasme des cellules-filles pendant les nouvelles divisions, leur réunion suivante et la formation de liens cellulaires, se rencontrent en premier lieu — comme nous l'avons vu — pendant la spermatogénèse chez divers types d'animaux, dans des éléments par conséquent, qui par des divisions successives d'une seule cellule-mère donnent une génération, une famille, un groupe cellulaire (Zimmermann [l. c.]). Les liens cellulaires uniraient alors toutes les cellules issues de la même cellule-mère.

Une signification semblable des ponts cellulaires peut être acceptée aussi pour les éléments de l'ovaire. Il peut exister ici une cellule indifférente, une cellule-mère, qui par de nombreuses divisions successives

donne un certain nombre d'éléments qui restent avec cette cellule-mère en des relations de parenté — si on peut s'exprimer ainsi — très proches et qui forment ensemble un groupe cellulaire, dans lequel toutes les cellules sont liées par des ponts cellulaires. Il faut ajouter encore, que les cellules issues d'une seule cellule-mère peuvent différer les unes des autres non seulement par leur structure morphologique, mais aussi par leur fonction physiologique.

Les nombreuses recherches sur l'ovaire des Insectes persuadent que dans celui-ci apparaissent trois éléments différents, à savoir des œufs, des cellules nourricières et des cellules folliculaires, puis que ces trois types cellulaires se disposent dans l'ovaire de façon spéciale et constituent des segments nommés «chambres ovariques». Chaque chambre se compose d'une cellule grande — l'oocyte ou l'œuf, de plusieurs cellules nourricières, dont le nombre varie d'une espèce à l'autre et d'une rangée de cellules folliculaires, qui forment une enveloppe autour de la chambre. La question de l'origine de ces types cellulaires est aussi presque complètement élucidée; les nombreuses recherches (Giardina [l. c.] et d'autres) prouvent que l'oeuf et les cellules nourricières proviennent d'une cellule indifférente qui subit plusieurs divisions de différenciation, tandis que les cellules folliculaires prennent origine très probablement d'un autre élément spécial de l'ovaire. La signification des liens cellulaires pendant l'ovogénèse serait alors la même que pendant la spermatogénèse. Les cellules issues de la même cellule-mère, et appartenant à la même famille restent depuis le commencement liées plus intimement par des résidus fusoriaux persistants, ce qui indiquerait même cette origine commune et cette parenté très proche de tous les éléments appartenant à un groupe.

La cause de la formation de liens cellulaires dans l'ovaire des Insectes doit peut-être être cherchée dans la structure même de l'ovaire, composé de chambres ovariques. Il est très probable, que toutes les cellules qui les composent — l'œuf et un certain nombre (n) de cellules nourricières — se réunissent dès le commencement par des ponts cellulaires. De cette façon elles restent depuis la première cytodiérèse de la cellule-mère indifférente en des connexions étroites, c'est dès la première division d'une seule cellule-mère que se différencie et s'arrange la chambre ovarique future.

Une question intéressante serait de savoir bien exactement, quelle est dans notre objet d'étude la nature des éléments qui sont liés ensemble par des résidus fusoriaux? Une réponse tout à fait sûre n'est pas d'ail-

leurs possible à cause du manque de matériel suffisant pour des recherches complètes sur l'ovogénèse chez la Vespe. Pour résoudre cette question il est nécessaire d'avoir un matériel très riche et favorable, car c'est seulement en ayant sous les yeux tous les stades d'évolution de l'ovaire et de ses éléments, depuis la cellule indifférente qui par des divisions successives d'un côté et par des différenciations structurales d'autre côté produit les œufs et les cellules nourricières, qu'on pourrait répondre sûrement sur la nature des éléments qui dans notre objet d'étude sont déjà liés par des ponts cellulaires.

Nous ne trouvons aucun renseignement sur cette question dans les recherches anciennes de Blochmann (1) et de Gross (6) exécutées sur l'ovaire de la Vespe. Blochmann (l. c.) s'occupe surtout du développement des œufs et en premier lieu de leur maturation et de la formation des corpuscules polaires, Gross (l. c.) donne plutôt des descriptions morphologiques de la structure des œufs et des cellules nourricières. Dans les autres travaux aussi qui traitent la question de l'ovogénèse chez les diverses espèces d'Insectes (Gross, Korschelt, Wielowiejski, Paulcke et d'autres) la question qui nous intéresse surtout n'est pas présentée de façon précise. C'est seulement dans les recherches de Giardina (5) sur l'ovogénèse de *Dytiscus* que nous pouvons trouver un certain appui pour l'hypothèse présentée plus bas. Giardina (l. c.) affirme que l'œuf et les cellules nourricières proviennent d'une cellule indifférente «l'oogonie», qui après avoir subi quatre divisions successives donne en somme 16 cellules, dont l'une représente l'oocyte, c'est à dire l'œuf, et les 15 autres des cellules nourricières. Il démontre aussi que toutes ces 16 cellules sont liées ensemble depuis la première cytodiérèse par des résidus fusoriaux et forment des groupes, des «rosettes». Chaque rosette représente une chambre ovarique.

Il est alors possible, que pendant l'ovogénèse chez la Vespe ont lieu des processus semblables à ceux de l'ovaire de *Dytiscus*, que les groupes cellulaires que nous y rencontrons naissent d'une cellule-mère indifférente; celle-ci par des divisions successives donne un certain nombre de cellules, dont l'une est l'œuf et les autres sont les cellules nourricières, appartenant à cet oeuf. Chaque groupe, dans lequel toutes les cellules sont liées ensemble par des résidus fusoriaux, qui se fusionnent et forment de cette façon des liens cellulaires de configuration très variable, représente une chambre ovarique.

Dans l'objet d'études de Giardina (l. c.) l'examen de ces éléments différents est plus facile, car l'oocyte diffère de cellules nourricières déjà après la première division de l'oogonie par le volume beaucoup plus con-

sidérable, par la position dans la rosette, ainsi que par les caractères structuraux internes, c'est à dire par la présence d'un anneau chromatique spécial à côté des éléments nucléaires communs à toutes les cellules. Chez la Vespe les différences entre les cellules qui composent un groupe et sont liées ensemble par des ponts cellulaires ne sont pas — sur nos préparations — tellement évidentes, qu'on puisse désigner à coup sûr les unes comme des oocytes et les autres comme des cellules nourricières. C'est pourquoi nous ne pouvons pas résoudre en ce moment cette question importante. L'hypothèse de l'origine commune d'une cellule-mère indifférente de tous les éléments liés par les liens cellulaires, a pour l'ovaire de la Vespe beaucoup de vraisemblance. Un fait est tout à fait sûr, c'est que le nombre de divisions de la cellule-mère est chez la Vespe plus grand que chez le *Dytiscus*, car dans notre objet d'étude le nombre de cellules nourricières est beaucoup plus grand. En tout cas nous croyons le fait démontré que toutes les cellules issues d'une cellule-mère, alors appartenant à une famille, comme s'exprime Zimmermann (l. c.) se réunissent ensemble par des ponts cellulaires.

Nous espérons pouvoir donner une description détaillée ainsi qu'une interprétation complète de toutes questions incertaines dans un autre travail, dans lequel nous nous appuyerons sur un matériel plus riche, que nous croyons bientôt avoir à notre disposition.

A la fin de notre exposé nous voulons encore brièvement présenter le sort ultérieur de résidus ainsi que de plaques fusoriales dans les cellules de groupes ovariques. La réponse n'est pas très difficile, car examinant les stades plus avancés de l'ovaire nous avons eu l'occasion de poursuivre les changements que subissent les résidus fusoriaux. Quand se réalise l'arrangement des cellules dans une chambre ovarique les résidus fusoriaux disparaissent en premier lieu, plus tard les plaques fusoriales. Les premiers, dont la structure même dans les éléments jeunes n'est que fibrillaire et où des filaments distincts ne se laissent le plus souvent démontrer, deviennent moins évidents, prennent une consistence pâteuse (Bolles Lee [l. c.]) et disparaissent de plus en plus dans le protoplasme cellulaire, ne laissant aucun vestige de leur existence. Donnent-ils origine aux »Nebenkerne«, ainsi que le supposent certains auteurs, nous ne pouvons le décider. Quant aux plaques fusoriales, elles disparaissent aussi, mais cette disparition se fait beaucoup plus lentement que celle des résidus. Très souvent nous les avons vues bien conservées encore dans des éléments qui par leur volume considérable et leur protoplasme granuleux diffèrent d'autres cellules et peuvent être désignés certainement comme des œufs.

Résumé.

Pendant l'ovogénèse chez la Vespe apparaissent avec une grande netteté dans les cellules diversement groupées des liens ou ponts cellulaires, observés jusqu'ici le plus souvent pendant la spermatogénèse chez certains animaux.

Ces ponts, dont le trajet est à la fois intra- et intercellulaire, se forment aux dépens des résidus fusoriaux, qui persistent dans les cellules pendant les nouvelles divisions et se fusionnent avec les résidus nouveaux de façon variable; de là proviennent des figures diverses par la configuration et le parcours de ponts. Pour que se réalisent les liens cellulaires, il est nécessaire, que le résidu ancien persiste et que l'axe de la nouvelle division croise celui de la précédente sous un certain angle. Les cellules liées par des ponts cellulaires dans l'ovaire de la Vespe représentent très probablement les éléments issues d'une seule cellule-mère indifférente, qui par des divisions successives et par une différenciation spéciale donne un oocyte — l'œuf — et un certain nombre de cellules nourricières. Toutes ces cellules liées ensemble constituent la chambre ovarique, qui s'arrange et se développe déjà dès la première division de la cellule-mère.

Index bibliographique.

1. Blochmann, F. Über die Reifung der Eier bei Ameisen und Wespen. Festschr. d. naturhistor.-medizin. Vereins. Heidelberg 1886.
2. Bolles Lee, A. La régression du fuseau caryocinétique. Le corps problématique de Platner et le ligament intercellulaire de Zimmermann des spermatocytes des Helix. La Cellule. T. XI. 1895.
3. Erlanger, R. v. Zur Kenntnis des feineren Baues des Regenwurmhodens und der Hodenzellen. Arch. f. mikroskop. Anatom. u. Entwicklg. Bd. XLVII. 1896.
4. —— Spermatologische Fragen. Zoolog. Centralbl. Bd. IV. 1897.
5. Giardina, A. Origine dell'oocite e delle cellule nutrici nel Dytiscus. Primo contributo allo studio dell'oogenesi. Internat. Monatschr. f. Anatom. u. Physiol. Bd. XVIII. 1901.
6. Gross, J. Untersuchungen über die Histologie des Insektenovariums. Zoolog. Jahrb., Abteil. f. Anatom. u. Ontog. Bd. XVIII. 1903.
7. Heidenhain, M. Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellenprotoplasma. Arch. f. mikrosk. Anat. u. Entwicklg. Bd. XLIII. 1894.
8. Henneguy, L. F. Leçons sur la cellule. Paris 1896.

9. Kostanecki, K. v. Über Centralspindel-Körperchen bei karyokinetischer Zellteilung. Anatom. Hefte. Bd. I. 1892.
10. —— Über die Schicksale der Centralspindel bei karyokinetischer Zellteilung. Anatom. Hefte. Bd. II. 1892.
11. —— Über die Bedeutung der Polstrahlung während der Mitose und ihr Verhältnis zur Teilung des Zelleibes. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklg. Bd. IL. 1897.
12. Meves, Fr. Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklg. Bd. XLVIII. 1897.
13. Platner, G. Die Karyokinese bei den Lepidopteren als Grundlage einer Theorie der Zellteilung. Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiolog. Bd. III. 1886.
14. Prenant, A. Observations cytologiques sur les éléments séminaux des Gastéropodes pulmonés. La Cellule. T. IV. 1888.
15. Wagner, J. Zur Kenntnis der Spermatogenese bei den Spinnen. Arbeit. kais. naturforsch. Gesellsch. St.-Petersburg. Bd. XXVI. 1896.
16. Zimmermann, K. W. Über den Kernteilungsmodus bei der Spermatogenese von Helix pomatia. Verhandl. d. anatom. Gesellsch. München. 1891.

Explication des figures.

Planche XL.

Toutes les figures ont été dessinées à la chambre claire d'Abbe avec l'immersion homogène de Zeiss 2,0, 1,30 et avec l'oculaire compensateur 12, alors sous un grossissement de 1500. Les images ont été projetées sur la table à dessiner à la hauteur de la platine du microscope.

Fig. 1. Une cellule-fille avec le résidu fusorial bien évident; il se divise en deux portions qui longent les côtés du noyau et se disséminent en fibrilles séparées qui s'unissent avec les travées de la charpente cellulaire. A la surface de la cellule une plaque fusoriale sous la forme d'un anneau qui vu de côté se présente comme une ellipse.

Fig. 2. Une cellule qui a subi deux divisions successives, ce dont témoigne la présence de deux plaques fusoriales. Le résidu, de configuration plus compliquée, se comporte comme dans la figure précédente, — il existe encore un faisceau connectif qui réunit directement deux plaques fusoriales.

Fig. 3. Une cellule après trois divisions successives. Les résidus fusoriaux se sont fusionnés ensemble, d'où se produit un corps de forme triangulaire qui est situé au-dessus du noyau cellulaire. Trois plaques fusoriales très évidentes prouvent que la cellule a subi trois divisions successives.

Fig. 4. Une cellule qui possède quatre plaques fusoriales après quatre divisions successives. Deux divisions ont eu lieu dans le même axe, désigné par des lettres *a x*, les autres sous des angles variés par rapport à cet axe commun, d'où provient la configuration générale des résidus.

Fig. 5. Une cellule séparée d'un groupe, dans lequel elle était unie avec cinq cellules par des résidus fusoriaux et des plaques en même nombre. Le résidu forme dans l'intérieur de la cellule la figure assez régulière d'un anneau entourant le noyau. Supposant que la première division a eu lieu dans l'axe *a x*, chaque division successive coupe l'axe de la précédente sous un certain angle, d'où le fusionnement des résidus appartenant à chaque division en un cordon presque uniforme.

Fig. 6. Trois cellules rangées en un cordon et réunies par un pont cellulaire composé de quelques résidus fusoriaux fusionnés. Avec le résidu principal qui traverse toutes les cellules et qui dans la dernière se divise en deux portions, se soudent dans la cellule médiane sous de certains angles encore deux autres résidus.

Fig. 7. Un groupe cellulaire composé de quatre cellules, dont deux sont beaucoup plus volumineuses que deux autres. Toutes les cellules sont liées ensemble par des ponts cellulaires. Un cordon épais — résidu principal — traverse directement trois cellules; avec lui s'unissent deux résidus, dont un passe dans la petite cellule et dont l'autre, vu seulement comme une plaque fusoriale à la surface cellulaire, réunit cette cellule avec l'autre au-dessus du plan de section.

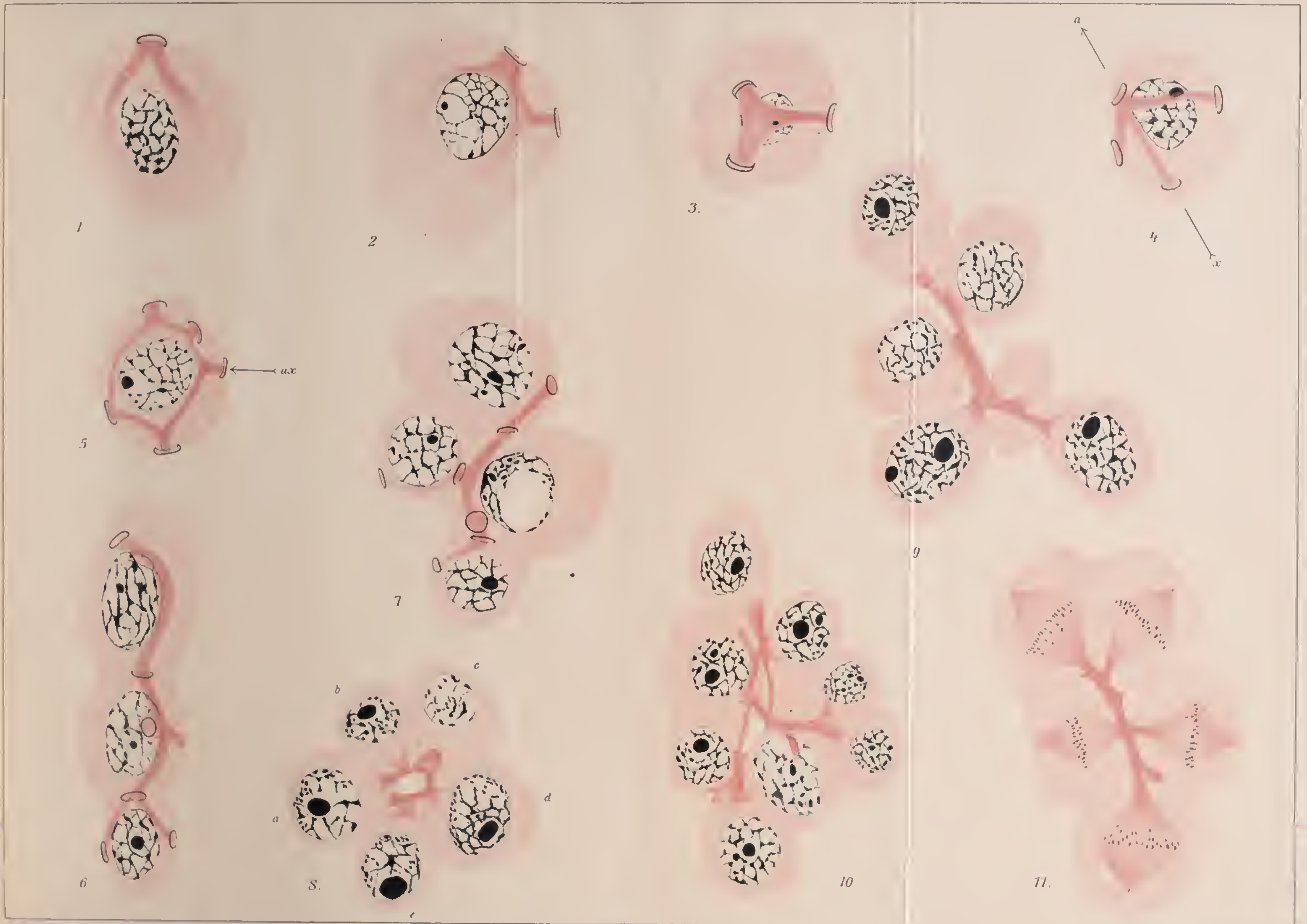
Fig. 8. Une rosette de cinq cellules de forme pyriforme, liées ensemble par des ponts cellulaires et orientées autour d'un point central occupé par un espace vide. Les ponts ont pris naissance par quatre divisions successives de cellules *a*, *b*, *c*, *d*, divisions qui ont eu lieu sous de certains angles; c'est pourquoi entre la cellule dernière *e*, issue de la division de *d* et la cellule *a*, il n'existe pas de lien direct. Les plaques fusoriales ne sont pas ici visibles.

Fig. 9. Un groupe cellulaire, dans lequel les cellules se sont éloignées les unes d'autres; c'est pourquoi le trajet des ponts cellulaires est ici dans sa plus grande étendue intercellulaire. Au cordon principal s'unissent les portions intracellulaires de résidus qui se comportent à la façon connue; les faisceaux compacts se disséminent dans le protoplasme cellulaire en des fibrilles et s'unissent avec les travées de la charpente de la cellule. Les plaques fusoriales se présentent seulement comme des lignes plus fortement colorées, la coloration noire fait ici défaut à cause d'une décoloration trop poussée à l'alun de fer.

Fig. 10. Un groupe cellulaire avec des ponts très ramifiés, dont le trajet est tantôt intra-, tantôt intercellulaire. Les plaques fusoriales se présentent comme dans la figure précédente.

Fig. 11. Un groupe cellulaire composé de cinq cellules, qui toutes se trouvent au même stade de la caryocinèse. L'axe autour duquel s'orientent les cellules, est occupé par un cordon fibrillaire, — résidu des divisions précédentes. A ce cordon s'unissent des branches résiduelles qui passent dans les cellules et s'y transforment en de nouveaux fuseaux caryocinétiques. Les corpuscules centraux sont très bien visibles au niveau des pôles libres de deux cellules. Les chromosomes ont la forme de petits et courts bâtons. —

Laboratoire d'Histologie de l'Université de Cracovie. Décembre, 1912.



Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Referate.

PÜTTER, A. Vergleichende Physiologie. Jena, G. Fischer. 1911.

»Im ganzen war nicht die Absicht maßgebend, ein Buch ‚für Anfänger und solche, die es bleiben wollen' zu schaffen, sondern ein Programm, nach dem sich weiter arbeiten läßt, oder das durch Herausforderung gegenteiliger Auffassungen zur Diskussion und damit hoffentlich zur Förderung der allgemeinen Probleme des Lebens ein wenig beiträgt.« Diese dem Vorwort des Buches entnommenen Worte charakterisieren es am besten. Es gliedert sich äußerlich also: »Einleitung«; »das Substrat der Lebensvorgänge«; »der Stoffwechsel«; »die Ernährung«; »der Stoffaustausch«; »die Lebensbedingungen«; »die Energieumwandlungen«; »die Reizbeantwortungen«; »die Sinnesorgane«; »das Nervensystem«; »die Vergleichung der Organismen«.

Auf physiologische Fragen kann hier nur kurz eingegangen werden. »Vergleichende Physiologie« ist so verstanden, daß die großen Probleme in den Vordergrund gerückt sind und die sie erläuternden Tatsachen lediglich als Beispiele dienen. Diese sind mit souveräner Beherrschung des Stoffes aus der Pflanzen-, Tier- und Bakterienphysiologie geholt. Es handelt sich also um kein »Sammelwerk«. Aber gerade wegen der Beschränkung im Material wirken die Probleme umso mächtiger auf den Leser, und es mag kaum ein biologisches Werk geben, das so sehr zum eignen Forschen anregt wie gerade dieses. Daß Lieblingsthemen des Verfassers in den Vordergrund gerückt sind, ist natürlich. Nie hat dies aber der Einheitlichkeit des Buches geschadet. Objektiv will das Buch nicht sein. Das ist gerade sein Vorzug, daß überall, ohne das Maß zu überschreiten, die stets interessante, wenn auch manchmal zum Widerspruch reizende Individualität des Verfassers hervortritt.

Wie in die verschiedensten Gebiete der Biologie, so greifen auch manche Betrachtungen in das Gebiet der Zellforschung über. In dem Kapitel »die physikalische Beschaffenheit der lebendigen Substanz«, das sich gliedert in »die Colloide und ihre Absorptionsverbindungen«, »die Membranen«, »der flüssige Aggregatzustand«, »die Schaumstruktur« wird in nur sieben Seiten die physikalische Grundlage der Zellforschung in einer Vollendung festgelegt, wie dies bisher noch nicht geschehen. Wo sich Gelegenheit bietet, z. B. bei »Phagocytose« oder »Secretion« werden die cellulären Vorgänge in Kürze zwar, doch im wesentlichsten geschildert. Besonders interessant ist die vom gewöhnlichen Säugetierschema abweichende Muskelzellenbeschreibung, bei der versucht wird, Struktur- und Funktionsverschiedenheit vereint zu betrachten. Wie hier, so findet sich auch in den nur vier Seiten über Flimmer- und amöboide Bewegung doch alles allgemein Bedeutsame. Die Schilderung der Nervenelemente geht von der Reizleitung ohne gesonderte Elemente einerseits, den ersten Differenzierungen einer nicht eigentlich »nervösen« Zelle (*Stentor*-Neurophane) anderseits aus. Nach Aufzählung

der wichtigsten Nervenzellformen kommt Verf. auf die Neurofibrillenleitung zu sprechen. Vom histologischen Nachweis ausgehend werden dann die sich widersprechenden Befunde am verkürzten Nerven von JENKINS und CARLSON einerseits, BETHE anderseits besprochen. Es folgen die histologischen Befunde von GOLDSCHMIDT und MERTON und die physikalischen Studien von KOLTZOFF, die zeigen, daß die Nervenzelle den gleichen Gesetzen unterworfen ist wie jede andre fibrillentragende Zelle und daß den Nervenfibrillen lediglich Stützfunktion zukommt. Aus diesen wenigen Beispielen, die sich leicht vermehren ließen, ist ersichtlich, wie viele den Zellforscher interessierende Probleme hier behandelt werden.

Bei der Fülle und Vielseitigkeit der Probleme ist es leicht denkbar, daß in dieser ersten Auflage des Werkes einige Ungenauigkeiten mit unterlaufen sind. So stimmt nach Ansicht des Ref. die Angabe S. 221, daß sich Glykogen auch bei pflanzlichen Organismen findet, nicht in dieser Form, da es allen chlorophyllführenden fehlt. Es könnte ferner die prinzipiell wichtige Tatsache erwähnt werden, daß bei Protozoen noch keine Lipase nachgewiesen ist. Bei der Schilderung der *Stentor*-Neurophane fehlen der Name des Entdeckers NERESHEIMER und der Angriff SCHRÖDERS auf dessen Deutung. Auch die Bemerkung, daß durch die »Systeme der rezipierenden, leitenden und reagierenden Gebilde« des Nervensystems »eine vollständige Kontinuität lebendiger Substanz« besteht, kann mißverstanden werden. Bei der Neurofibrillenlehre fehlt die Erwähnung der historisch wenigstens interessanten BETHEschen Preßversuche. Die chemische Physiologie des Stoffwechsels ist an einigen Stellen nicht ganz einheitlich, insofern als sie einesteils dem Physiologen zu Vertrautes bringt, anderseits dem Nicht-Physiologen nicht immer verständlich ist. Vielleicht könnte letzterem Umstand durch Ausschreiben der Formeln in einer neuen Auflage abgeholfen werden. Bei der weit über das Ziel einer Normal-Physiologie gesteckten Art des Buches könnte vielleicht noch die Bedeutung der Immunitätsforschung, Regeneration und Transplantation für die Fragen nach dem Wesen des Lebens besprochen werden.

Aber all dies sind Kleinigkeiten, die den großen Wert des Buches nicht beeinträchtigen können. Es wird nicht nur Forscher verschiedener Richtung dazu anregen, sich auch die physiologische Seite ihrer Arbeit näher anzusehen, sondern auch gerade wegen seiner umfassenden Betrachtungsweise von scheinbar mit der Physiologie im engeren Sinne nicht Zusammenhängendem dem Physiologen neue Wege weisen. Der Umstand, daß das Buch kein Vorbild hat — mit Ausnahme höchstens von VERWORNS »Allgemeiner Physiologie«, der es jedoch vorzuziehen ist — erhöht den Wert des trefflichen Werkes.

Erhard (München).

Handbuch der physiologischen Methodik, herausgegeben von R. TIGERSTEDT. Bd. I u. II. 1908—1912. Leipzig. Hirzel.

Von den bisher erschienenen zwei Bänden des Handbuches haben natürlich die meisten Artikel nur für den reinen Physiologen Interesse. Für den Zellforscher von Bedeutung sind jedoch zwei Artikel des ersten Bandes: PÜTTER, A., »Methoden zur Erforschung des Lebens der Protisten« und BETHE, A., »Wirbellose Tiere«. PÜTTERS Darstellung umfaßt: »I. Die Objekte, die Materialgewinnung, die Reinzüchtung der Protisten; II. Allgemeine Methoden, Beobachtungen am lebenden Objekt, Vitalfärbung; III. Spezielle Methoden, 1. die physikalisch-chemische Beschaffenheit

der Protisten, a) der Aggregatzustand, b) die chemische Zusammensetzung. 2. Ernährung und Verdauung. 3. Stoffwechsel. 4. Energieumwandlungen. 5. Secretion und Excretion. 6. Reizphysiologie, a) Symptomatologie, b) Technik der Reizversuche. 7. Lebensbedingungen. Literatur.« Mit Ausnahme der Schneidetechnik ist also alles Wesentliche für die Protistenforschung enthalten. Auch aus BETHES Artikel wird der Zellforscher manches für ihn Wichtige über Wahl, Haltung des Materials und Eingriffe erfahren.

Erhard (München).

Handbuch der vergleichenden Physiologie, herausgegeben von H. WINTERSTEIN. Jena, G. Fischer. II. Band. Physiologie des Stoffwechsels. 1. Hälfte. Die Aufnahme, Verarbeitung und Assimilation der Nahrung von W. BIEDERMANN. 1911.

Wenn auch das ganze monumentale Werk WINTERSTEINS noch nicht abgeschlossen vorliegt, so gestatten doch die bisher erschienenen Hefte einen Einblick in seine Art. Der Stoff ist so gegliedert, daß einzelnen Autoren die Darstellung bestimmter Funktionen übertragen wurde. Innerhalb derselben erfolgt die Reihenfolge der Schilderung nach der systematischen Stellung der Organismen und schließlich werden die jeweils so zu einem speziellen Teil zusammengetragenen Tatsachen in einem darauffolgenden allgemeinen Teil kritisch beleuchtet. Neben dieser besonders glücklichen Einteilung sei hervorgehoben, daß dem Werke nicht nur dem Umfang nach, sondern auch was die Weite des Gesichtskreises anbelangt, weitere Grenzen gezogen sind als allen bisherigen früheren Büchern dieser Art. So mag es kaum einen Zweig der Biologie geben, der dieses Werkes entraten könnte. Da auch der Zellforscher, wie sich aus den bisher vorliegenden Heften ergibt, reiche Anregung durch dasselbe findet, sei es hier besprochen. Nach dem bisher Vorliegenden kann man erwarten, daß in ihm ein biologisches Werk entsteht, wie es bisher keine Sprache auch nur annähernd besessen.

WINTERSTEIN vergleicht die vergleichende Physiologie in seinem Vorwort mit einem »dunklen Erdteil«, dessen Landkarte noch viele leere Stellen aufweist und sagt, daß sich mit ihrem Studium viele eigentlich nur »im Nebenberufe beschäftigen«. Es ist dies leider eine bedauerliche, in äußeren Einrichtungen begründete Tatsache. Wir können weiterhin sagen: Wie es schwierig ist, von einem solchen dunklen Erdteil die allgemeine physikalische Geographie zu entwerfen, so schwierig mag es auch hier sein, aus der Vergleichung lückenhaften Tatsachenmaterials eine »allgemeine Physiologie« abzuleiten. Inwieweit dies den einzelnen Autoren gelungen, soll in einer Besprechung der einzelnen Bände erwähnt werden.

Vollständig liegt bisher nur die erste Hälfte des zweiten Bandes, der von BIEDERMANN bearbeitete Teil der »Physiologie des Stoffwechsels«, ein Buch von über 1500 Seiten vor. Die ersten 270 Steine sind der Ernährung der Bakterien und Pflanzen gewidmet. Den Zellforscher werden hier besonders die allgemeinen Kapitel und die über die Ernährung der Hefe und der Bakterien interessieren; selbst über deren Kultur findet sich das Wichtigste.

Von den folgenden, den verschiedenen Tierklassen gewidmeten Kapiteln ist für den Zellforscher besonders wichtig der die Einzelligen behandelnde Abschnitt. Schon der erste Absatz »Wird gelöste Nahrung aufgenommen?« ist wegen der ruhigen sachlichen Art, wie die sich widerstreitenden Ansichten behandelt werden, ein Musterbeispiel. Auf die folgende »Abhängigkeit der Amöben von Bakterien« ist hier meines

Wissens zum ersten Mal in einem zusammenfassenden Werk eingehend hingewiesen. Das Kapitel »Die Aufnahme fester Nahrungskörper. 1. Amöben und Heliozoen« enthält auch die interessanten physikalischen Versuche RHUMBLERS genauer geschildert. Bei den Flagellaten werden die Organismen ohne Lokalisierung der Nahrungsaufnahme von denen mit lokalisierter — solchen mit und ohne Mundöffnung — unterschieden, bei den Ciliaten finden die morphologischen Einrichtungen zur Nahrungsaufnahme, auch die zur Erzeugung von Strudelwirkung, eingehende Berücksichtigung. Bei den Verdauungsvorgängen sind besonders die Erscheinungen an den Myxomyceten länger besprochen; auch die interessante Tatsache, daß Protozoen eine Lipase fehlt, findet sich verzeichnet. Eine Beigabe einer Fermenttabelle hier, etwa wie sie WEINLAND im »Handbuch der Biochemie« gegeben hat, würde die Übersichtlichkeit noch mehr erhöhen. Sehr eingehende Besprechung finden die interessanten Stoffwechseluntersuchungen von NIERENSTEIN (Vacuolenbildung usw.), während im Kapitel »Assimilationsstoffe« nur die Arbeit von STOLC fehlt. Nach Schilderung der »pflanzlichen Ernährungstypen bei den Protozoen« — ein Widerspruch, der aber physiologisch gerechtfertigt ist —, die Chromomonadinen, Dinoflagellaten und Euglenaceen behandelt, wird die Symbiose zwischen Algen und Pilzen, die Bedeutung der gelben und grünen Zellen, auch die Beweise ihrer Zellnatur, besprochen. Wegen seiner wenig geklärten Natur wird das »tierische Chlorophyll« anhangsweise angereiht.

Ich habe mich beim Referat der Protozoen länger aufgehalten, um an diesem Beispiel zu zeigen, in welch tiefgründiger und doch zugleich umfassender Weise BIEDERMANN seine Aufgabe gelöst hat. Man findet dies genau so bei allen andern Tierklassen verwirklicht. Hervorgehoben sei besonders, mit welch feinem kritischen Takt der Verf. noch nicht nachkontrollierte, etwas zweifelhafte Untersuchungen, wie z. B. die KRUKENBERGS, besprochen hat. Für den mit der Morphologie nicht Vertrauten wird immer ein Kapitel über den Bau der betreffenden Klasse vorausgeschickt, das alles wesentliche Anatomische enthält, und bei den einzelnen physiologischen Vorgängen, besonders bei der Speichelsecretion, Darmresorption usw. werden auch die den Zellforscher interessierenden histologischen Veränderungen gebührend geschildert. Gerade die eminente Beherrschung der Morphologie macht das Buch zu einem in der physiologischen Literatur unerreichten Werk. Beispielsweise enthält es eingehend: Die Morphologie des tätigen *Ascaris*-Darms nach VAN GEHUCHTEN, des Mitteldarms von *Arenicola* nach BRASIL und *Artemia* nach FRENZEL, die Histologie der Cephalopodenleber, die Morphologie der Speichelsecretion und Leber von *Helix* nach BARFURTH, bzw. BIEDERMANN und MORITZ, die Schleimbildung im Wirbeltiermagenepithel nach M. HEIDENHAIN, die Morphologie der Froschpancreassecretion nach MATHEWS u. v. a.

Alles in allem hat BIEDERMANN hier ein Buch geschaffen, das gerade wegen der großartigen Beherrschung und Zusammenfassung von auf verschiedene Disziplinen verteilten Forschungen ein Werk von unerreichter Einheitlichkeit darstellt. Wenn, um nur ein Beispiel herauszugreifen, beim »Wiederkäuer« die besondere Anatomie der Zähne und des Verdauungstractus verfolgt wird bis in die einzelnen histologischen Zellelemente, diese in ihrer Morphologie bei der Funktion geschildert werden, die Art der Nahrung, die chemischen und physikalischen Vorgänge bei ihrer Aufnahme, die Morphologie der Darminfusorien, ihre physiologische und pathologische Bedeutung und Infektion eingehende Berücksichtigung finden, so ersieht man daraus, daß jedem Einzelforscher, mag er nun Anatom, Histolog, Zellforscher, Physiolog, Protozoenforscher, Parasitolog oder Tierarzt sein, erst beim Lesen dieses Buches die Gesamtheit der biologischen Vorgänge klar wird.

Wenn bei einem so einzigartigen Werk sich der Ref. einen Wunsch erlauben darf, so wäre es höchstens der, daß durch einige Tabellen, besonders was die chemischen Vorgänge anbelangt, da und dort die Übersichtlichkeit des Buches erhöht würde und daß die Physik und Chemie an einigen wenigen Stellen durch Anschreiben und Entwickeln der Formeln usw. auch dem Nicht-Physiologen noch begreiflicher gemacht würden.

Erhard (München).

Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere, herausgegeben von C. Oppenheimer. 4 Bände. Jena, G. Fischer. 1909—1911.

Das unter Mitwirkung berufenster Fachmänner herausgegebene Werk schließt die Biochemie der Pflanzen aus, da über sie gute Werke bereits vorliegen.

Den Zellforscher wird besonders die in der ersten Hälfte des zweiten Bandes in 274 Seiten kurz behandelte »Biochemie der Zelle« interessieren. Sie zerfällt in: »I. Physikalische Chemie der Zelle von K. Spiero, II. Die künstliche Parthenogenese von Jacques Loeb, III. Über physiologische Ionenwirkungen, insbesondere die Bedeutung der Na, Ca und K-Ionen von Jacques Loeb, IV. Der Stoffwechsel und Energiewechsel der Zelle und der Einzelligen von M. Jacoby, V. Die Theorie des Färbeprozesses von L. Michaelis, VI. Das Protoplasma als chemisches System von A. Kanitz, VII. Blutkörperchen. Spermatozoen von A. Kanitz.« Trotz der Kürze findet sich hier alles Wesentliche vor, so daß man diesen Teil als die beste Einführung in die Biochemie der Zelle empfehlen kann. Die den Morphologen befremdende Behandlung der Blutkörperchen und Spermatozoen an dieser Stelle rechtfertigt sich biochemisch.

Das ganze Werk, das zeigt, zu welch mächtigem Zweig der Wissenschaft die Biochemie sich entwickelt hat, besitzt nur den einen äußeren Nachteil, daß es kein Gesamtregister enthält.

Erhard (München).

Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, herausgegeben von E. Abderhalden. Berlin u. Wien, Urban und Schwarzenberg.

Das noch nicht ganz abgeschlossene, bereits sechsbändige Werk hat für den Zellforscher besonders als Nachschlagewerk Bedeutung, wenn er sich über die chemische Natur im Mikroskop gefundener Körper, wie Pigmente, Lipoide, Fette usw. informieren will. Daneben finden sich für ihn im Spezielleren interessante Artikel, wie z. B. der von Jacques Loeb verfaßte Aufsatz über die »Methoden bei der künstlichen Parthenogenese«. Bei der großen Zahl der Mitarbeiter sind Widersprüche innerhalb des Werkes begreiflich — z. B. zwischen Grube und Pflüger.

Erhard (München).

Steudel, H. Zur Histochemie der Spermatozoen. I. In: Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. LXXII. 1911. S. 305. II. Ebenda. Bd. LXXIII. 1911. S. 471. III. Ebenda. Bd. LXXXIII. 1903. S. 72.

Seitdem es als erwiesen betrachtet werden kann, daß das »Chromatin« des Kernes als Vererbungsträger anzusehen ist, steht auch seine biochemische Konstitution im

Vordergrund des Interesses der Zellforschung. STEUDEL fand, wie schon früher MIESCHER und MATHEWS, daß die Köpfe der Spermatozoen (nach Untersuchungen am Hering) fast ganz aus Nucleinsäure und Protamin bestehen, und zwar ist ein Viertel »Clupein« durch die freien Amidogruppen der Arginylgruppen des Protamins mit drei Viertel Nucleinsäure verbunden. Zwar ist die Natur des Protamins noch nicht geklärt, dagegen konnte von STEUDEL (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. LXXVII. 1912. S. 497) die Formel für die Nucleinsäure mit $C_{43} H_{57} N_{15} P_4 O_{32}$ festgelegt werden. Ferner zeigte er, daß die molecularen Größenverhältnisse des Protamins und der Nucleinsäure komplizierter sind als die am künstlich hergestellten Salz von nucleinsaurem Protamin.

Diese hochinteressanten Ergebnisse lassen hoffen, daß vielleicht in nicht allzu ferner Zeit der Zellforschung und Vererbungslehre auch von biochemischer Seite aus neue Gesichtspunkte geboten werden.

Erhard (München).

ABDERNALDEN, E. Synthese der Zellbausteine in Pflanze und Tier. Berlin 1912. Springer. 128 Seiten.

Verf. faßt hier kurz das Ergebnis seiner in den letzten Jahren erschienenen Arbeiten zusammen. Er vertritt darin die Ansicht, daß der Hauptzweck der Verdauung nicht der sei, die Eiweißkörper der Nahrung einfach in einen löslichen Zustand überzuführen — wie dies bisher angenommen wurde —, sondern der, artfremdes Eiweiß in indifferente Bausteine zu zerlegen und diese dann wiederum zu arteignem Eiweiß aufzubauen. Dieser prinzipiell bei Pflanze und Tier gleich verlaufende Vorgang gilt nach dem Verf. auch für den Fett- und Kohlehydratstoffwechsel. Gegen den bekannten Einwand, daß ja z. B. pflanzliches Fett als solches im Tierkörper abgelagert werden kann, führt er an, daß dieses mit dem aktiv im Tierkörper tätigen nichts zu tun habe, sondern nur eine Zeitlang im pflanzlichen Zustand bleibe, um später erst abgebaut und dann zu tierischem Fett aufgebaut zu werden. Als Beweis für seine Eiweißtheorie führt er an, daß es ihm gelang, mit synthetisch hergestellten Eiweißbausteinen — Aminosäuren — Monate lang Tiere im Eiweißgleichgewicht zu halten. — Mit dieser sehr geistvoll und überzeugend vom Verf. entwickelten Theorie ist jedenfalls in die Stoffwechselphysiologie ein ganz neuartiger, zu manchen biologischen Forschungen in Beziehung tretender interessanter Zug gekommen.

Erhard (München).

BALDWIN, W. M. The Relation of Muscle Cell to Muscle Fibre in Voluntary striped Muscle. In: Zeitschr. f. Allgem. Physiol. Bd. XIV. S. 130—145. 1912.

BALDWIN, W. M. The Relation of the Sarcolemma to the Muscle Cells of voluntary vertebrate striped Muscle Fibres and its morphological nature. Ebenda. S. 146—160.

Die quergestreifte Muskelsubstanz wird — nach Untersuchungen an Säugetieren und Amphibien — erst intracellulär gebildet und dann extracellulär verlagert. Muskelfaser- und Bindegewebsbildung ist identisch. Die quergestreifte Muskelfaser ist keine vielkernige Riesenzelle, auch sind Muskelfaser und Muskelzelle nicht Synonyma. Das Sarcolemm trennt Muskelzellen einerseits von Sarcoplasma und Muskelfibrillen anderseits.

Erhard (München).

Stübel, H. Morphologische Veränderungen des gereizten Nerven. In: Pflügers Archiv. Bd. CXLIX. 1912. S. 1.

Die Markscheide markhaltiger Nerven wird von einem Netzwerk durchzogen, dessen Wabenwände aus Eiweißkörpern und dessen Wabeninhalt aus fettähnlichen Substanzen besteht. Das Netzwerk des gereizten Nerven ist weiter als das des ungereizten.

»Es finden demnach bei der Tätigkeit des Nerven morphologische Veränderungen der Markscheide statt. Diese Tatsache muß in dem Sinne gedeutet werden, daß mit der Tätigkeit des Nerven Veränderungen der chemischen oder der physikalisch-chemischen Beschaffenheit der Markscheide einhergehen. Da die Veränderungen der Markscheide unter Umständen bereits unmittelbar (wenige Sekunden) nach Beginn der Reizung auftreten, sind sie nicht als Ermüdungserscheinungen aufzufassen. Vielmehr werden die Veränderungen der Markscheide der Ausdruck dafür sein, daß bei der Tätigkeit des Nerven der Achsencylinder (bzw. der die Erregung vermittelnde Bestandteil desselben, die Neurofibrillen) in einer ständigen und innigen Wechselbeziehung, vielleicht einem Stoffaustausch mit der Markscheide steht. In ähnlicher Weise hat Waller die Bedeutung der Markscheide für die Tätigkeit des Nerven aufgefaßt.

Man könnte daran denken, daß die Markscheide oder einer ihrer Bestandteile bei der Fortleitung des Erregungsvorganges eine ähnliche Rolle spielt wie das Sarcoplasma der quergestreiften Muskelfaser bei der Kontraktion. Auch hier hat man in neuerer Zeit Beobachtungen gemacht, welche dafür sprechen, daß bei jeder Kontraktion die kontraktile Fibrille in Beziehung zu dem sie umgebenden Sarcoplasma tritt.«

Schöne Mikroaufnahmen erläutern das Gesagte.

Erhard (München).

Legendre, R. Bâtonnets intranucléaires des Cellules nerveuses. In: Bibliographie anatomique. T. XXII. 1912. p. 234.

Besonders in den Kernen der großen und der polymorphen Pyramidenzellen von Hunden fanden sich in Ein- bis Dreizahl feine Stäbchen vor.

Erhard (München).

Legendre, R. et Piéron, H. Caractères de la propriété hypnotoxique des humeurs développée au cours d'une veille prolongée. In: Bull. d. Mus. d'hist. nat. 1912. Nr. 3. p. 1.

Legendre, R. et Piéron, H. Recherches sur le besoin du sommeil consécutif à une veille prolongée. In: Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. XIV. 1912. S. 235.

Aus dieser hauptsächlich physiologischen Arbeit seien folgende celluläre Ergebnisse hervorgehoben: Hunde, die am Schlaf 150—293 Stunden verhindert worden waren, zeigen deutliche Veränderungen der Nervenzellen in manchen Regionen: Exzentrische Lage des Kernes, Anschwellen desselben, exzentrische Lage des zuweilen verdoppelten Kernkörperchens, Chromatolyse des ganzen Zellplasmas oder nur der dem Kern benachbarten Partien, Vacuolenbildung im Plasma und den Dendriten und Zunahme der Neurogliazellen. Diese Veränderungen nehmen proportional der schlaf-

losen Zeit zu und verschwinden, sobald den Tieren der normale Schlaf wieder gelassen wird. Die gleichen Veränderungen lassen sich an normal gehaltenen Hunden durch Übertragung der toxischen Stoffe schlafloser Hunde erzielen. Aus dem Umstand, daß die Verfasser an durch Muskelarbeit ermüdeten Tieren obige Veränderungen nicht beobachtet haben, schließen sie, daß es sich bei diesen nicht um allgemeine Ermüdungserscheinungen (— sondern wohl um specifische Nervenreizzustände — d. Ref.) handelt.

Erhard (München).

LEGENDRE, R. Notes sur le système nerveux central d'un Dauphin. In: Bullet. d. Mus. d'hist. nat. 1912. Nr. 1. p. 5.

LEGENDRE, R. Notes sur le système nerveux central d'un Dauphin. In: Arch. d'anat. microsc. T. XIII. Fasc. III. 1912. p. 377.

Eingehende histologische Beschreibung des Centralnervensystems eines Delphins Bemerkenswert sind auffallend dicke Nervenfasern.

Erhard (München).

PÜTTER, A. Organologie des Auges. 3. Auflage. In: GRAEFE-SAEMISCH, Handbuch der gesamten Augenheilkunde. Teil I. Kapitel X. Leipzig, Wilhelm Engelmann. 1912.

Das Buch enthält außer einer umfassenden morphologischen und physiologischen Betrachtung der verschiedenen Lichtsinnesorgane im Tierreich auch zahlreiche den Zellforscher interessierende histologische Einzelheiten. Wenn es auch zuweilen Unrichtigkeiten aufweist, wie z. B. S. 269, Absatz 2, S. 270, Absatz 3 und 4, so muß es doch nach der klassischen mehr physiologischen Arbeit von HESS in WINTERSTEINS »Handbuch der vergleichenden Physiologie« als die beste mehr morphologische Übersicht über dieses Thema bezeichnet werden. Eine Fülle trefflicher Abbildungen und ein sehr umfangreiches Literaturverzeichnis zeichnen das Buch noch besonders aus.

Erhard (München).

WARBURG, O., Über die Wirkung der Struktur auf chemische Vorgänge in den Zellen. Jena, G. Fischer. 1913. 21 S.

In interessanter gemeinverständlicher Form eines Vortrags behandelt Verf. das Thema. Vielleicht könnte auf die Vorgänge bei der Secretion näher eingegangen werden. Bemerkenswert ist, daß sich Verf. zu den Ansichten über die Hefegärung, die sich in die Schlagworte zusammenfassen: Fermentwirkung, Strukturwirkung, so stellt, daß er der Struktur beschleunigende Wirkung auf die Fermentwirkung beimißt.

Erhard (München).

DISSELHORST, R., Anatomie und Physiologie der großen Haussäugetiere. 2. Aufl. Berlin, P. Parey. 1912. 408 S.

Die »Physiologie« ist hier ziemlich kurz geraten. Die Darstellung des Cellulären, besonders die oft recht primitive Form der Abbildungen, entspricht öfters nicht den heutigen Anforderungen.

Erhard (München).

Biedl, A., Innere Secretion. Ihre physiologischen Grundlagen und ihre Bedeutung für die Pathologie. 2. neubearbeitete Auflage. 1. Teil. Berlin u. Wien, Urban u. Schwarzenberg. 1913. 534 S.

Das Werk behandelt nicht nur, wie der Verf. angibt, die »physiologischen Grundlagen« der inneren Secretion, sondern es schildert auch in der umfassendsten Weise die anatomischen, histologischen, biologischen und chemischen Grundlagen derselben. Vieles für den Zellforscher Interessante, — besonders auch histogenetische Bemerkungen — findet sich in ihm. Hervorgehoben seien besonders auch die schönen Abbildungen.

Erhard (München).

Kolmer, W., Beziehungen von Nebenniere und Geschlechtsfunktion. In: Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CXLIV. 1912. S. 361.

Besonderer Reichtum siderophiler Körper in der Reticularis beim Männchen, besonderer Fettreichtum der Fasciculosa und häufige Pigmentierung der innersten Rindenschichten der Nebenniere beim Weibchen sind nach Untersuchungen am Meerschweinchen charakteristisch. Mit Beginn der Gravidität geht eine lebhafte Zelldegeneration Hand in Hand. Später erfolgt mitotische Neubildung. In der Milz ferner ist für laktierende, puerperale und gravide Weibchen im Gegensatz zu den virginalen Weibchen sowie den Männchen der Reichtum an feingranulierten mononucleären Leucocyten bezeichnend.

Erhard (München).

Warburg, O., Über Beziehungen zwischen Zellstruktur und biochemischen Reaktionen. In: Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CXLV. 1912. S. 277.

Verf., der schon früher im Gegensatz zu E. Buchner die Ansicht vertreten hatte, daß die physiologische Verbrennung kein einfacher enzymatischer Vorgang sei, sondern daß sie an die specifischen Zellbestandteile — Chromosomen, Kernmembran, Granula, Plasmahaut usw. — gebunden sei, zerstörte mechanisch mittels des Barnard-Hewlettschen Apparates die feinsten Strukturen von roten Blutkörperchen und konnte daraufhin keinerlei Atmung derselben mehr konstatieren.

Erhard (München).

Petry, E., Zur Chemie der Zellgranula. Die Zusammensetzung der eosinophilen Granula des Pferdeknochenmarks. In: Biochem. Ztschrft. Bd. XXXVIII. 1912. S. 92.

Die eosine Leucocytengranula ist ein phosphorfreier Eiweißkörper, der bei Kochen mit Säuren Leucin und Tyrosin liefert und wegen seiner Schwerlöslichkeit und Unverdaulichkeit wohl in die Nähe der Hornsubstanzen oder des Elastins zu stellen ist.

Erhard (München).

ENRIQUES et ZWEIBAUM. La conjugaison et la différenciation sexuelle chez les Infusoires. V. ZWEIBAUM, Les conditions nécessaires et suffisantes pour la conjugaison du *Paramaecium caudatum*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVI. S. 275—393.

Zwei Ansichten über den Eintritt der Conjugation bei Infusorien standen sich bisher gegenüber: Während MAUPAS, R. HERTWIG, CALKINS u. a. in erster Linie innere Ursachen annahmen, suchte ENRIQUES die Conjugation auf äußere Lebensbedingungen — besonders die chemische Zusammensetzung des umgebenden Mediums — zurückzuführen. Die eingehende Untersuchung von ZWEIBAUM erscheint nun geeignet, beide Anschauungen bis zu einem gewissen Grade zusammenzubringen und manche Widersprüche zu beseitigen:

Vorbedingung für das Zustandekommen der Conjugation bei *Paramaecium caudatum* ist hiernach ein gewisser Ernährungszustand der Infusorien. (Tiere aus reichlich gefütterten Kulturen müssen erst 5—6 Wochen bei spärlicher Nahrung gehalten werden.) Ist diese Vorbedingung erfüllt, so tritt stets Conjugation ein, wenn 1. die Paramaecien plötzlich in ein fast nahrungsloses Medium versetzt werden; 2. dieses Medium eine bestimmte chemische Zusammensetzung besitzt; 3. die Temperatur sich zwischen 9° und 29° hält.

[Während es sich bei diesen drei letzten Faktoren also um unmittelbare Einwirkungen der äußeren Bedingungen im Sinne von ENRIQUES handelt, zeigt die genannte Vorbedingung, daß eben doch ein gewisser »innerer Zustand« — natürlich nicht etwa ein bestimmtes Entwicklungsstadium — der Infusorien erreicht sein muß, damit Conjugation eintreten kann. Ref.]

Der Hauptteil der Arbeit ZWEIBAUMS ist der Untersuchung der für den Eintritt der Conjugation erforderlichen bzw. ihn begünstigenden chemischen Zusammensetzung des Mediums gewidmet. Die Einwirkung einer großen Anzahl von Salzen (Chloride der verschiedensten 1—4wertigen Metalle, Na-Halogenverbindungen, $NaNO_3$, $NaSO_4$, $NaCO_3$, $NaPO_4$) in den verschiedensten Konzentrationen wurde genau geprüft, und es ergab sich hierbei, daß zwar einige Salze den Eintritt der Conjugation besonders begünstigen, daß es sich aber im allgemeinen nicht um specifische Einwirkungen bestimmter Ionen handelt, sondern daß in bestimmten Konzentrationen sämtliche herangezogenen Verbindungen Paarung hervorrufen. Allgemeine chemische Gesetzmäßigkeiten lassen sich nach ZWEIBAUM hierbei noch nicht erkennen. Von Einzelfeststellungen wäre zu erwähnen, daß die Na-Halogenverbindungen mit fallendem Moleculargewichte die Conjugation mehr begünstigen. Die besten Erfolge wurden mit $AlCl_3$ in Lösungen von n/24 000—n/48 000 erzielt. Hier conjugierten so gut wie alle Paramaecien, neben normalen Paaren fanden sich gelegentlich auch Vereinigungen von drei und vier Individuen. —

[Leider hat Verfasser seine sämtlichen Untersuchungen an einer einzigen — nur unter verschiedenen Bedingungen gehaltenen — »reinen Linie« von *Paramaecium caudatum* ausgeführt, so daß es, besonders nach den von JENNINGS mitgeteilten verschiedenen Resultaten bei verschiedenen Rassen, erst weiterer Nachprüfung bedarf, ob seinen interessanten Ergebnissen allgemeine Gültigkeit zukommt. Denn es bedeutet wohl ein Verkennen des Wesens der Lehren von den »reinen Linien«, wie im besonderen der *Paramaecium*-Untersuchungen von JENNINGS u. a., wenn ZWEIBAUM auf Grund

der großen Variabilität seines einzigen Stammes sowie der starken Veränderlichkeit unter verschiedenen Lebensbedingungen das Vorhandensein differenter Rassen von *Paramaecium caudatum* bestreitet.]

V. Jollos (München).

Enriques, P. Il dualismo nucleare negli Infusori ed il suo significato morfologico e funzionale. II. Die Nahrung und die Struktur des Macronucleus. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVI. S. 420—434.

Um seine früher geäußerte Vermutung, der Macronucleus der Infusorien habe eine secretorische Funktion, zu beweisen, studierte Enriques die Struktur des Macronucleus von *Opercularia coarectata* und *Stylonychia pustulata* unter verschiedenen Ernährungsbedingungen. Bei beiden Infusorien fanden sich bei analogem Ernährungszustande prinzipiell die gleichen Kernstrukturen: Der Macronucleus hungernder Tiere besitzt kompaktes Chromatin, das von achromatischen Kanälen durchsetzt ist (die auf Schnitten als verschieden große Vacuolen erscheinen); bei gut ernährten Infusorien dagegen wird das Chromatin körnelig, die Körner sind durch feine Fäden miteinander verbunden, so daß eine Art Netz besteht. Degenerierende Tiere endlich wiesen eine ähnliche Struktur wie hungernde auf. — Da nun bei degenerierenden Infusorien zwar Nahrungsvacuolen vorhanden sind, aber keine Verdauung der Nahrung stattfindet, so besteht offenbar ein Zusammenhang zwischen der »Hungerstruktur« des Macronucleus und dem Fehlen der Verdauung. Da ferner die chromatischen Stoffe secernierender Zellen körnig werden, wie dies auch beim Macronucleus verdauender Infusorien beobachtet wurde, so ist zu schließen, daß eben im Macronucleus die verdauenden Säfte gebildet werden; und zwar geht der Secretionsprozeß hier »viel weiter als in den Kernen der Secretionszellen und — morphologisch — so weit wie bei dem Ergastoplasma und ähnlichen cytoplasmatischen Strukturen«. — Die Ansicht von Comes von der Existenz einer ergastoplasmatischen Struktur im Cytoplasma der Infusorien wird von Enriques zurückgewiesen, da die hierfür angesprochenen Körnchen nicht die Struktur, Färbbarkeit und Entstehung des Ergastoplasmas haben und eine auf sie zurückzuführende Enzymbildung nicht nachgewiesen ist.

V. Jollos (München).

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

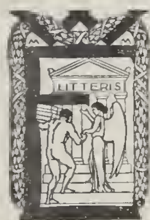
VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ZEHNTER BAND
ERSTES UND ZWEITES HEFT
MIT 31 TEXTFIGUREN UND 20 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 1. APRIL 1913



LEIPZIG
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1913

Preis: M. 26.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 1. und 2. Heftes.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig

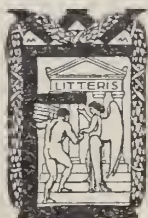
ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN
VON
DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ZEHNTER BAND
DRITTES HEFT
MIT 45 TEXTFIGUREN UND 10 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 6. MAI 1913



LEIPZIG
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1913

Preis: M. 22.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 3. Heftes.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN
VON
DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ZEHNTER BAND
VIERTES HEFT
MIT 14 TEXTFIGUREN UND 11 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 8. JULI 1913



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1913

Preis: M. 20.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung **sobald als möglich** in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

